

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ADIÇÃO DE NITRATO  
EM SEDIMENTOS EUTROFIZADOS DA REPRESA IBIRITÉ (BETIM – MG):  
EXPERIMENTOS EM MICROCOSMOS**

HELENA JANKE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção de título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto

Coorientadora: Dra. Clarice Maria Rispoli Botta

SÃO CARLOS

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

J33ae

Janke, Helena.

Avaliação ecotoxicológica da adição de nitrato em sedimentos eutrofizados da Represa Ibité (Betim – MG): experimentos em microcosmos / Helena Janke. -- São Carlos : UFSCar, 2009.  
103 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Ecologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Sedimentos. 4. Toxicidade - testes. I. Título.

CDD: 574.5 (20<sup>a</sup>)

**Helena Janke**

**Avaliação Ecotoxicológica da Adição de Nitrato em Sedimentos Eutrofizados da Represa Ibirité (Betim – MG): Experimentos em Microcosmos**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

**Aprovada** em 15 de maio de 2009

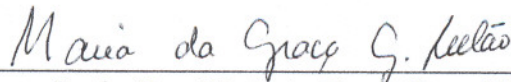
**BANCA EXAMINADORA**

Presidente



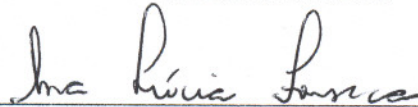
Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto  
(Orientador)

1º Examinador



Profa. Dra. Maria da Graça Gama Melão  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Profa. Dra. Ana Lúcia Fonseca  
Universidade Fed. de Itajubá



Profa. Dra. Dalva Maria da Silva Matos  
Coordenadora  
PPGERN/UFSCar

## **AGRADECIMENTOS**

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) / Processo 07/52972-5, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

À PETROBRAS (Petróleo Brasileiro S/A) pelo apoio e auxílio financeiro ao Projeto Ibirité – Fase II, no qual este trabalho de mestrado está inserido.

Ao Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto, pela orientação e pela oportunidade de trabalhar no LBGqA – DQ/ UFSCar.

À Dra. Clarice Maria Rispoli Botta, pela coorientação e por ter viabilizado o desenvolvimento de parte deste trabalho no CRHEA – USP.

Ao Dr. Bias Marçal de Faria, Priscilla Reis da Silva, Paulo Rubens Cabral, Eduardo Barcelos Platte, do CENPES/Petrobras, e a Claudia Zanette, da REGAP/Petrobras, por terem viabilizado a aprovação e muito contribuído para a execução do Projeto Ibirité – Fase II e pela atenção em todos os encontros.

À equipe do Projeto Ibirité – Fase II, pela troca de conhecimento e experiências.

Ao técnico Luis Aparecido Joaquim, da UFSCar, pela grande e indispensável ajuda nas coletas e trabalho de campo.

Ao técnico Amandio Menezes Nogueira, do CRHEA – USP, pela ajuda com os testes de toxicidade.

À Thais Mariana Yamada pelo companheirismo, amizade, muita risada e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos Daniele, André, Cássia, Marina, Maria de Lourdes e Luciana por toda amizade e ajuda ao longo destes dois anos de mestrado.

À minha querida família, meus pais Ewald e Célia e minhas irmãs Nadja e Tatiana, por toda a minha vida.

Ao Diego, meu amor e companheiro de todas as horas.

## RESUMO

O presente trabalho visou à avaliação da toxicidade da aplicação de solução de nitrato de cálcio, como procedimento de intervenção para remediação de sedimentos de um ambiente aquático eutrofizado. O estudo foi realizado através de microcosmos com sedimento e água de interface sedimento-água da Represa Ibirité, situada na região metropolitana de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil). Os experimentos tiveram a duração total de 135 dias, divididos nos tempos de tratamento ou incubação de: t=0, t=5; t=10; t=25; t=50; t=85 e t=135 dias. Em cada tempo de tratamento foram analisados um microcosmo-controle e três microcosmos-tratamento. Os organismos *Ceriodaphnia silvestrii* e *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox<sup>®</sup>) foram utilizados para avaliação da toxicidade aguda das águas de interface sedimento-água e intersticial dos sedimentos, enquanto o organismo *Chironomus xanthus* para avaliação do sedimento integral. Em paralelo aos testes de toxicidade foram realizadas análises químicas da série nitrogenada (nitrato, nitrito e amônia), sulfato, e metais nas amostras de água de interface sedimento-água e intersticial dos sedimentos, sulfetos volatilizáveis por acidificação (SVA), metais extraídos simultaneamente (MES) e metais potencialmente biodisponíveis nos sedimentos. Os resultados mostraram que o nitrato, chegando a concentração superior a 1.200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> nas amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamentos, foi considerado o causador mais provável da toxicidade das amostras dos microcosmos-tratamento para os organismos-teste empregados. Para o organismo *Chironomus xanthus*, os sedimentos em tratamento foram deletérios aos organismos expostos em todos os tempos de incubação, exceto no tempo t=135 dias. Estritamente do ponto de vista ecotoxicológico e para as condições experimentais deste trabalho, a aplicação do nitrato como forma de intervenção para remediação dos sedimentos da Represa Ibirité não se mostrou adequada.

**Palavras-chave:** tratamento de sedimentos; nitrato de cálcio; toxicidade aguda; *Ceriodaphnia silvestrii*; *Vibrio fischeri*; Microtox<sup>®</sup>; *Chironomus xanthus*

## ABSTRACT

The objective of the present dissertation was to make a toxicity assessment of the application of calcium nitrate solution as a remediation procedure for sediments of a eutrophic aquatic ecosystem. The study was carried out using microcosms with superficial sediments and water from sediment-water interface of the Ibirité Reservoir located in the metropolitan area of Belo Horizonte (Minas Gerais, SE Brazil). The experiment lasted 135 days and the following treatment or incubation periods were applied: t=0, t=5, t=10, t=25, t=50, t=85 and t=135 days. In each period, one control-microcosm and three treatment-microcosms were disassembled and, chemically and ecotoxicologically analyzed. The organisms *Ceriodaphnia silvestrii* and *Vibrio fischeri* (Microtox<sup>®</sup> System) were used for the acute toxicity assessment of the water from sediment-water interface and the pore water of sediments, whereas the organism *Chironomus xanthus* was used for the toxicity assessment of bulk sediment. The toxicity tests were run in parallel with chemical analyzes of dissolved inorganic nitrogen species (nitrate, nitrite and ammonium), sulfate, and metals in the interface sediment-water and interstitial water samples. Acid volatile sulfide (AVS), simultaneously extracted metal (SEM) and potentially bioavailable metals were analyzed in bulk sediment. The overall results indicate that nitrate whose concentration reached 1,200 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> in sediment pore water samples from treatment-microcosms is the most probable compound causing toxicity to the tests organisms. For *Chironomus xanthus* sediments were deleterious to the exposed organisms in all microcosm run, except in the period of t= 135 days. For the experimental conditions of this work, the application of calcium nitrate as a remediation procedure for sediments from Ibirité Reservoir indicated to be inadequate from the ecotoxicological point of view.

**Keywords:** sediment remediation; calcium nitrate; acute toxicity; *Ceriodaphnia silvestrii*; *Vibrio fischeri*; Microtox<sup>®</sup>; *Chironomus xanthus*

## **LISTA DE ABREVIACES**

ABNT = Associação Brasileira de Normas Técnicas

AIT = Avaliação e Identificação da Toxicidade

ASTM = American Society for Testing and Materials

CEPE = Clube de Empregados da Petrobras

CETESB = Companhia de Tecnologia de Saneamento e Abastecimento do Estado de São Paulo

CNEN = Comissão Nacional de Energia Nuclear

CRHEA = Ecotoxicologia do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada

CE50 – Concentração Efetiva Média

CL50 – Concentração Letal Média

FCV = Final Chronic Value

GF-AAS: Espectrofotometria de Absorção Atômica com forno de Grafite

HG-AAS: Espectrofotometria de Absorção Atômica com Gerador de Hidretos

ICP-OES: Espectrometria de Emissão por Plasma Acoplado Indutivamente

ISO = International Standardization for Organization

LAPOC = Laboratório de Poços de Caldas

MES = Metais Extraídos Simultaneamente

PEL = Probable Effect Level

REGAP = Refinaria Gabriel Passos

SVA = Sulfetos Volatilizveis por Acidificação

TEL = Threshold Effect Level

UGR = Unidade de Gestão de Resíduos

USEPA = United States Environmental Protection Agency

VGUTAI = Valores-Guia de Unidades Tóxicas de guas Intersticiais

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Reação metabólica do processo de bioluminescência em *V. fischeri* (PELOSI e FRANCHI, 2003).

FIGURA 2. Curva dose-resposta hipotética. Os valores de CL50 podem ser estimados por simples interpolação gráfica (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008).

FIGURA 3. Localização da Represa Ibitité e seus principais cursos d'água tributários.

FIGURA 4. Foto aérea da Represa Ibitité, Betim, MG. No detalhe foto do ponto de amostragem escolhido para coleta de amostras para montagem dos microcosmos.

FIGURA 5. Dados da composição granulométrica levantados por MOZETO (2008), para comparação entre pontos amostrais da represa.

FIGURA 6. Concentração de  $\text{PO}_4^{-3}$  nas amostras de água de interface sedimento-água nos microcosmos-teste, em cada período de abertura.

FIGURA 7. Montagem dos microcosmos: (a) introdução do sedimento, (b) aplicação da solução de nitrato no sedimento e (c) introdução da água de interface sedimento-água.

FIGURA 8. Microcosmos: (a) microcosmos prontos tampados com rosca plástica e (b) microcosmos montados cobertos com papel alumínio para evitar o contato com a luz.

FIGURA 9. Representação do procedimento geral do teste de toxicidade aguda com a bactéria luminescente *V. fischeri* (RODRIGUES, 2006).

FIGURA 10. CE50;48h (%) para *C. silvestrii* das amostras de água de interface sedimento-água e água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

FIGURA 11. CE50;15' (%) para *V. fischeri* das amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento.

FIGURA 12. Perfil de amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) em (a) interface sedimento-água (b) água intersticial; nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) em (c) interface sedimento-água (d) água intersticial; nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) em (e) interface sedimento-água (f) água intersticial.

FIGURA 13. Perfil de sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) em (a) interface sedimento-água (b) água intersticial.

FIGURA 14. Reação de oxidação dos sulfetos pelo nitrato (BABIN *et al.*, 2003).

FIGURA 15. Concentração de SVA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) nos sedimentos dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.



FIGURA 16. Dendograma ACH considerando ferro e manganês para água de interface sedimento-água dos microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento. R1; R2; R3 são as réplicas dos microcosmos-tratamento.

FIGURA 17. Dendograma ACH considerando níquel, ferro e manganês para água intersticial dos sedimentos nos microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento. R1; R2; R3 são as réplicas dos microcosmos-tratamento.

FIGURA 18. Gráfico de tendência dos metais em sedimento ao longo do tempo de experimento para amostras dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

FIGURA 19.  $\Sigma$ MES para microcosmos-controle e microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

FIGURA 20. Potencial redox ( $E_H$ ) (mV) dos sedimentos inicial, microcosmos-controle e média dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

FIGURA 21. Sedimentos dos microcosmos-controle e de uma réplica de cada tempo de tratamento para os microcosmos-tratamento: (a) t=0 dia, (b) t=5 dias, (c) t=10 dias; (d) t=25 dias (e) t=50 dias, (f) t=85 dias, (g) t=135 dias.

FIGURA 22. pH das amostras de (a) água de interface sedimento-água e (b) água intersticial.

FIGURA 23. Concentração de ortofosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em (a) águas de interface sedimento-água e (b) águas intersticiais, dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento (Yamada, 2009).

## **LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1. Testes de toxicidade padronizados no Brasil (adaptado de COSTA *et al.*, 2008).

QUADRO 2. Dados levantados por MOZETO (2008), para comparação entre pontos amostrais da represa.

QUADRO 3. Resumo dos testes utilizados para avaliação da toxicidade.

QUADRO 4. Critérios de qualidade de sedimentos.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Concentração média dos analitos  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N-NO}_2^-$ , nas águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento.

TABELA 2. Concentração média dos analitos  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N-NO}_2^-$ , nas águas intersticiais dos microcosmos-tratamento.

TABELA 3. CE50 obtida nos testes com solução de nitrato de cálcio para *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox<sup>®</sup>).

TABELA 4. Médias das CE50 ( $\text{g L}^{-1}$ ) obtida nos testes com solução de nitrato de cálcio para *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox<sup>®</sup>).

TABELA 5. Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de metais dissolvidos nas águas de interface sedimento-água nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

TABELA 6. Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de metais dissolvidos em águas intersticiais dos sedimentos nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

TABELA 7. Concentração média de Mn e CE50; 48h (*C. silvestrii*) para amostras de água de interface sedimento-água e água intersticial dos microcosmos-tratamento.

TABELA 8. Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$  de sedimento seco) de metais biodisponíveis nos sedimentos dos microcosmos-controle e tratamento.

TABELA 9.  $\Sigma\text{MES}$  - SVA ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) para os microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

TABELA 10. Concentração efetiva mediana CE50;48h ( $\text{g L}^{-1}$ ) obtida em testes de sensibilidade a cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

TABELA 11. Concentração efetiva mediana CE50;96h ( $\text{g L}^{-1}$ ) obtida em testes de sensibilidade a cloreto de potássio para *Chironomus xanthus*.

TABELA 12. Concentração efetiva mediana CE50;15' ( $\text{mg L}^{-1}$ ) obtida em testes de sensibilidade a sulfato de zinco para *Vibrio fischeri*.

TABELA 13. Limites de detecção dos métodos utilizados na determinação de nutrientes nas amostras de água e de sulfeto para SVA ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

TABELA 14. Limites de quantificação e métodos analíticos utilizados na determinação de metais nas amostras de água ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

TABELA 15. Limites de quantificação e métodos analíticos utilizados na determinação de metais nas amostras de sedimento ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

TABELA 16. Limites de quantificação utilizados na determinação de MES das amostras de sedimento ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

TABELA 17. CE50; 48h (%) para *Ceriodaphnia silvestrii* das amostras de água de interface sedimento-água em cada réplica dos microcosmos-tratamento.

TABELA 18. CE50; 48h (%) para *Ceriodaphnia silvestrii* das amostras de água intersticial dos sedimentos em cada réplica dos microcosmos-tratamento.

TABELA 19. Valores de amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

TABELA 20. Valores de nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

TABELA 21. Valores de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

TABELA 22. Valores de sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

TABELA 23. Valores de ortofosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

TABELA 24. Potencial redox ( $E_H$ ) dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos sedimentos-tratamento para cada tempo de tratamento.

TABELA 25. Valores de pH nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

## **PREÂMBULO**

A Represa de Ibirité (Betim, MG) está localizada em uma área densamente povoada e industrializada, na região da grande Belo Horizonte, e sofre um processo avançado de eutrofização já sistematicamente diagnosticado em estudos prévios, coordenados pelo Prof. Dr. Antonio A. Mozeto, do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental (LBGqA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e pelo Prof. Dr. Francisco Antônio Rodrigues Barbosa do Laboratório de Limnologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os estudos acima citados fizeram parte do Projeto Ibirité – Fase I (janeiro/2002 a julho/2004) e foram financiados pela Petrobras (Petróleo Brasileiro S/A), por intermédio do Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello (CENPES - Petrobras) e da Refinaria Gabriel Passos (REGAP - Petrobras).

Com o propósito de continuação do Projeto Ibirité – Fase I, o Projeto Ibirité – Fase II (março/2007 a dezembro/2010) tem como foco o desenvolvimento de estudos que visam a implantação futura de um programa integrado de recuperação da Represa Ibirité. O LBGqA-DQ/UFSCar desenvolve, dentro do Projeto Ibirité – Fase II, o subprojeto “*Avaliação da Qualidade e Remediação de Sedimentos da Represa de Ibirité e seus Tributários (REGAP-Petrobras)*” que busca propostas de tratamento dos sedimentos da represa.

A Etapa 1 do Projeto Ibirité – Fase II consistiu na confirmação do diagnóstico ambiental (obtido na Fase I) e em estudos de Avaliação e Identificação da Toxicidade (AIT) das águas intersticiais dos sedimentos da represa. A Etapa 2 avaliou a aplicação de nitrato de cálcio como forma de intervenção para a remediação dos sedimentos da Represa Ibirité. Esta tecnologia foi testada inicialmente em bancada de laboratório usando microcosmos.

A dissertação aqui apresentada é parte integrante do Projeto Ibirité – Fase II, e vem contribuir para a compreensão do tratamento dos sedimentos da Represa Ibirité do ponto de vista ecotoxicológico. Além disso, este trabalho complementar as interpretações geoquímicas/biogeoquímicas dos processos resultantes da aplicação de nitrato de cálcio nos sedimentos (objetivo central do subprojeto citado), avaliadas em uma tese de doutorado da BSc/MSc Thaís Mariana Yamada, do LBGqA-DQ/UFSCar. Nesta tese, será avaliada a retenção do fósforo e degradação de hidrocarbonetos nos sedimentos promovidos pela aplicação de tal tecnologia.

## SUMÁRIO

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Lista de Abreviações.....	iii
Lista de Figuras.....	iv
Lista de Quadros.....	vi
Lista de Tabelas.....	vii
Preâmbulo.....	ix
1 Introdução.....	1
1.1 Ecotoxicologia aquática.....	1
1.1.1 Organismos-teste.....	5
1.1.2 Testes de toxicidade.....	11
1.2 Eutrofização artificial.....	15
1.2.1 Nitrogênio e fósforo em ecossistemas aquáticos.....	16
1.2.2 Restauração de ambientes aquáticos eutrofizados.....	18
1.2.3 Sedimentos: tratamento com nitrato.....	21
2 Objetivos.....	25
2.1 Objetivo geral.....	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
3 Descrição da área de estudo.....	26
4 Material e métodos.....	29
4.1 Coleta de amostras.....	29
4.2 Montagem dos microcosmos.....	31
4.2.1 Microcosmos-teste.....	31

4.2.2 Microcosmos definitivos.....	33
4.3 Testes de toxicidade aguda.....	35
4.3.1 <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	36
4.3.2 <i>Vibrio fischeri</i> / Sistema Microtox®.....	36
4.3.2.1 Toxicidade aguda do nitrato de cálcio para <i>Vibrio fischeri</i> / Sistema Microtox®.....	38
4.3.3 <i>Chironomus xanthus</i> .....	38
4.3.4 Avaliação da qualidade dos organismos-teste.....	39
4.4 Análises químicas.....	40
4.4.1 Variáveis físicas e químicas.....	40
4.4.2 Determinação de nutrientes dissolvidos em água.....	40
4.4.3 Determinação de metais dissolvidos em água.....	42
4.4.4 Determinação de metais em sedimento.....	42
4.4.5 SVA e MES nos sedimentos.....	42
4.4.6 Análise dos dados.....	43
4.5 Descarte dos resíduos.....	44
5 Resultados e discussão.....	45
5.1 Testes de toxicidade aguda.....	45
5.2 Toxicidade X Série Nitrogenada (NH <sub>3</sub> , N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ).....	48
5.3 Toxicidade X Sulfatos.....	55
5.4 Toxicidade X Metais.....	58
5.4.1 Metais em amostras de água .....	58
5.4.2 Metais em amostras de sedimento.....	63
5.4.3 MES e SVA.....	65

5.5 Considerações sobre o método de intervenção dos sedimentos da Represa Ibirité com nitrato de cálcio.....	68
5.5.1 Potencial Redox.....	68
5.5.2 pH.....	71
5.5.3 Ortofosfato.....	72
5.5.4 Nitrato.....	73
5.5.5 Recomendações.....	74
6 Conclusões.....	76
7 Referências bibliográficas.....	77
Anexos.....	95
Anexo 1.....	96
Anexo 2.....	97
Anexo 3.....	99
Anexo 4.....	100



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Ecotoxicologia aquática

O termo ecotoxicologia, empregado a primeira vez por René Thuhaut em 1969, surgiu como uma extensão natural da toxicologia que enfatiza os efeitos adversos de agentes químicos a organismos individuais, integrando a ela conceitos fundamentais da ecologia (HOFFMAN *et al.*, 1995). Desta forma, a ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda os efeitos de agentes químicos e físicos sobre organismos vivos, especialmente sobre populações e comunidades dentro de ecossistemas definidos, incluindo os destinos e interações desses agentes no ambiente (BUTLER, 1978 *apud* ANDERSON, 1998).

O conceito acima apresentado evidencia a ecotoxicologia como uma ciência que abarca noções fundamentais de diversas ciências como a ecologia, química, bioquímica, fisiologia, entre outras (RAND *et al.*, 1995). Por toda gama de conceitos e conhecimentos que deve integrar, a ecotoxicologia permite avaliar os efeitos biológicos e ecológicos de determinado contaminante ou poluente, bem como, prever riscos a partir de uma contaminação (HOFFMAN *et. al.*, 1995).

Sob o contexto da crescente urbanização e industrialização, que têm agravado severamente o problema da poluição dos corpos d'água, a ecotoxicologia veio contribuir para a avaliação e detecção de compostos tóxicos que afetam a biota aquática. Embora testes de toxicidade com enfoque aquático tenham sido documentados já por volta de 1863 (RAND *et al.*, 1995), apenas a partir de 1950 a ecotoxicologia aquática teve credibilidade nas discussões e elaboração de critérios e padrões direcionados à manutenção da qualidade dos recursos hídricos (ZAGATTO, 2006a).

O emprego de instrumentos da ecotoxicologia aquática auxilia a compreensão e correção de monitoramentos baseados apenas em determinações químicas. As análises químicas isoladamente, não fornecem informações sobre o efeito potencial de uma substância tóxica, nem sobre os efeitos fisiológicos cumulativos, antagônicos e sinérgicos que podem afetar um organismo (BAUDO, 1987 *apud* FONSECA, 1997; RODRIGUES e UMBUZEIRO, 2004).

Além do compartimento aquático, a ecotoxicologia aquática também aborda os sedimentos que se constituem em um elemento essencial, integrador e dinâmico

dos sistemas aquáticos. Formador de uma variedade de habitats, o sedimento prove condições essenciais para a vida aquática e integra as redes tróficas nos corpos d'água (SEDNET, 2004), a partir das macro e micro faunas bentônicas (BURTON, 1991; PORTELA *et al.*, 2006).

Os sedimentos são as camadas de partículas minerais e orgânicas que se encontram em contato com a parte inferior dos corpos d'água (BAIRD, 2005) e são considerados como o resultado da integração de todos os processos que ocorrem em um ecossistema aquático. De forma geral, o sedimento constitui-se tipicamente por uma mistura de argila, silte, areia, sais minerais e matéria orgânica, mas sua composição depende basicamente de fatores naturais (geoquímica) e antrópicos (ARAÚJO *et al.*, 2006).

O sedimento de ambientes aquáticos é um compartimento que apresenta grande concentração de nutrientes, atuando no papel de acumulação e liberação dos mesmos para a coluna d'água. A capacidade do sedimento em estocar nutrientes é função principalmente da sua composição, sendo que sedimentos orgânicos apresentam em geral maior concentração de nutrientes do que sedimentos minerais. Além disso, os teores de nutrientes no sedimento podem também ser influenciados pela composição granulométrica deste compartimento, sendo que frações mais finas (silte e argila) possuem maior área superficial de contato e, portanto, maior capacidade de complexação e retenção de nutrientes e contaminantes (BURTON, 2002).

O entendimento do papel integrador dos sedimentos é o grande foco do ponto de vista da ecotoxicologia. Os contaminantes que entram nos corpos hídricos associam-se às partículas orgânicas e inorgânicas presentes na coluna d'água por processos de adsorção, complexação e precipitação e depositam-se como sedimentos nos ambientes aquáticos. Estes, por sua vez, funcionam como um sumidouro temporário de poluentes e sob condições reduzidas (anaerobiose) liberam os contaminantes para a coluna d'água podendo afetar, portanto, não só a fauna bentônica, mas também a fauna nectônica (BURTON, 1991). Além disso, o excesso de matéria orgânica sedimentada, como ocorre em corpos d'água eutrofizados, cria condições para a existência de um ambiente redutor com formação de compostos tóxicos, como ácido sulfídrico e íons amônio (MURPHY *et al.*, 1999). Por tudo isso, a proteção da qualidade dos sedimentos é um componente do gerenciamento global da água (BAIRD, 2002).

Os testes de toxicidade podem fornecer informações sobre a biodisponibilidade de um contaminante a partir de diferentes fases utilizadas na exposição durante testes com amostras de sedimento. A exposição do organismo-teste é avaliada em laboratório ou *in situ*. A escolha pela fase do sedimento a ser utilizada para realização de um teste de toxicidade depende principalmente do objetivo que se pretende com o teste. O mesmo se diz sobre outras condições que envolvem o teste, como duração, complexidade do sistema-teste e espécie testada (ARAÚJO *et al.*, 2006). As fases dos sedimentos utilizadas em testes de toxicidade podem ser o sedimento total e as frações líquidas dos sedimentos, como o elutriato (quando o soluto para extração da fase a ser testada é a água), a fase extraível (quando o soluto para extração da fase a ser testada não é água) e a água intersticial (BURTON, 1991; TRAUNSPURGER e DREWS, 1996).

A escolha por determinada fase para a realização de um teste de toxicidade trás vantagens e desvantagens na interpretação dos resultados obtidos. Os testes de toxicidade *in situ* e aqueles desenvolvidos com a fase total dos sedimentos são tidos como mais holísticos e que apresentam maior relevância ecológica e realismo (BURTON, 1991).

No entanto, as fases líquidas do sedimento também são de grande importância para o entendimento da dinâmica toxicológica da matriz sólida, já que essas fases (água intersticial e elutriato) representam a fração biodisponível de contaminantes (USEPA, 1992). A transferência de poluentes presentes nos sedimentos para os organismos aquáticos pode ocorrer por meio de transferência intermediária para a água intersticial, que é a água presente nos poros microscópicos existentes no material que forma os sedimentos. Quando integrados ao sedimento, os contaminantes são regidos pelo equilíbrio de partição sedimento-água (DI TORO *et al.*, 1990), permitindo que a água intersticial seja uma importante rota de exposição de um grande número de compostos (BURTON, 1991).

Os compostos indicadores de contaminação ambiental encontrados no sedimento podem ser orgânicos, como inseticidas, herbicidas, BPC (bifenilas policloradas), HPA (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), dentre outros, e os inorgânicos, como metais, semi-metals e não-metals. Os compostos orgânicos não-iônicos (como BPC e HPA) estão em um estado de equilíbrio, por processos de adsorção, entre as superfícies das partículas sólidas e fração desses compostos dissolvidos na água intersticial que é altamente dependente do conteúdo de matéria

orgânica presente nessas frações, ou seja, carbono orgânico (ADAMS, 1995; BURGUES e SCOTT 1992).

Para os metais os fatores que controlam a forma na qual o metal existe no sedimento, *i.e.* sua especiação, são diversos e não estão totalmente esclarecidos. Os metais podem estar na forma livre em solução (hidratados), complexados ao carbono orgânico dissolvido ou coloidal presente na água intersticial ou associado às partículas do sedimento por processos de adsorção (LAMBERSON *et al.*, 1992).

Em sedimentos lacustres oxidados as fases responsáveis pela adsorção desses elementos foram identificadas como sendo o carbono orgânico particulado e óxidos-hidratados de ferro e manganês. Desta forma, essas fases teriam papel importante na capacidade dos sedimentos de assimilar tais elementos e torná-los indisponíveis à biota (ALLEN *et al.*, 1993).

Segundo DI TORO *et al.* (1990) e ALLEN *et al.* (1993), em sedimentos anóxicos, os sulfetos (dominantemente na forma geoquímica de monossulfetos de ferro) reagem com íons de cádmio, cobre, mercúrio, níquel, chumbo e zinco formando precipitados extremamente insolúveis, controlando assim, a partição e, conseqüentemente, a assimilação (ou a biodisponibilidade) dos íons desses elementos. Se a concentração de íons sulfetos, *i.e.* monossulfetos de ferro, excede a concentração do somatório de metais acima citados, todos os íons metálicos estarão retidos como sulfetos insolúveis, ficando indisponível do ponto de vista biológico.

A dinâmica dos metais, semi-metais e não-metais em ambientes aquáticos é de extrema complexidade. O distribuição, disponibilidade e toxicidade destes analitos podem ser influenciados também por outros fatores como pH, potencial de oxido-redução, temperatura, adsorção, sedimentação, precipitação e tamanho da partícula, dentre outros fatores (FÖRSTNER, 1990).

No entanto, é relevante lembrar que a relação da toxicidade de diferentes compostos a organismos aquáticos depende de diversos fatores, como o tipo de contaminante, propriedades físicas e cinéticas do sedimento e a espécie de organismo que está sendo avaliada (BOESE *et al.*, 1990; LANDRUM e ROBBINS, 1990 *apud* TRAUNSPURGER e DREWS, 1996). Desta forma, mais uma vez, a escolha pela fase e tipo de teste a ser realizado depende muito dos objetivos do estudo a se desenvolvido. Por exemplo, os elutriatos, extrato aquoso obtido por lixiviação dos sedimentos, refletem diretamente a interface sedimento-água, já que os contaminantes dos sedimentos não se restringem apenas aos organismos

bentônicos, mas também podem afetar os organismos pelágicos por meio da ressuspensão dos sedimentos e liberação dos contaminantes neles adsorvidos (COSTA *et al.*, 2008). Assim, o elutriado é a fase líquida que pode ser utilizada para representar uma situação de dragagem de sedimentos, por exemplo.

### **1.1.1 Organismos-teste**

A toxicidade de agentes químicos no meio hídrico é avaliada por meio de testes ecotoxicológicos com organismos representativos do ambiente aquático que apresentam diferentes graus de sensibilidade a diferentes compostos. Os testes de toxicidade apresentam confiabilidade quando garantem boa reprodutibilidade e robustez de resultados (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006). No Brasil, a avaliação, padronização e validação de testes são feitos por associações ou organizações de normalização, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e a Companhia de Tecnologia de Saneamento e Abastecimento do Estado de São Paulo (CETESB), entre outras.

Os organismos-testes incluem algas, macrófitas, peixes, organismos bentônicos, epibênticos e invertebrados pelágicos (BURTON, 1992). De acordo com ADAMS (1995), os grupos mais utilizados em testes de toxicidade aquática são peixes, como *Pimephales promelas*; microcrustáceos, como *Daphnia* sp e *Ceriodaphnia* sp; anfípodas, como *Hyaella azteca*; larvas de insetos, como *Chironomus* sp; e algas verdes, como *Pseudokirchneriella subcapitata*. Segundo USEPA (1994), as espécies escolhidas para teste podem ser selecionadas com base na sensibilidade ao contaminante testado, no hábito alimentar, na distribuição geográfica, na relação taxonômica com espécies nativas ou por já existir um procedimento padrão. Alguns testes de toxicidade padronizados no Brasil, para diferentes grupos taxonômicos, são apresentados no QUADRO 1.

QUADRO 1. Testes de toxicidade padronizados no Brasil (adaptado de COSTA *et al.*, 2008).

Organismo	Espécie	Normas brasileiras
Bactéria	<i>Vibrio fischeri</i>	CETESB, L5.227
Bactéria	<i>Spirillum volutans</i>	CETESB, L5.228
Alga	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CETESB, L5.020 e ABNT, NBR12648
Microcrustáceo	<i>Daphnia similis</i> <i>Daphnia magna</i>	CETESB, L5.018 e ABNT, NBR12713
Microcrustáceo	<i>Artemia salina</i>	CETESB, L5.021
Microcrustáceo	<i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	CETESB, L5.022 e ABNT, NBR13373
Peixe	<i>Danio rerio</i> <i>Pimephales promelas</i>	CETESB, L5.019 e ABNT, NBR15088

No trabalho aqui apresentado, os organismos-teste de interesse são a larva da espécie *Chironomus xanthus*, o microcrustáceo *Ceriodaphnia silvestrii* e a bactéria *Vibrio fischeri*. Algumas considerações sobre cada uma dessas espécies estão apresentadas a seguir:

### ***Chironomus xanthus* (Diptera – Chironomidae)**

Os representantes da família Chironomidae constituem, juntamente com os representantes da família Oligochaeta, um dos grupos mais abundantes da comunidade bentônica (FONSECA e ROCHA, 2004). Os quironomídeos, assim como grande parte da macrofauna bentônica, desempenham papel importante na reciclagem de nutrientes em ambientes aquáticos e ocupam posição chave na cadeia alimentar como consumidores de detritos. Além disso, eles estão presentes na dieta de aves e peixes de água doce (GIESY *et al.*, 1988; BAUDIN e NUCHO, 1992).

A família Chironomidae é composta por organismos adaptáveis a muitos tipos de ambientes e apresenta uma grande riqueza de espécies (LINDEGAARD, 1995 *apud* ARAÚJO *et al.*, 2006a). As larvas dos insetos pertencentes ao grupo dos quironomídeos apresentam um amplo espectro quanto a requisitos ambientais, sendo características de ambientes lóticos e lênticos, águas frias ou quentes. Estas larvas possuem hemoglobina, o que garante sua manutenção mesmo em ambientes com baixa concentração de oxigênio (MCCAFFERTY, 1983).

Por serem representativos dos sedimentos, os quironomídeos são frequentemente utilizados para a avaliação da toxicidade desta matriz do ambiente aquático. As larvas de quironomídeos são sensíveis a compostos tóxicos persistentes, como metais pesados e pesticidas (GIESY e HOKE, 1989 *apud* FONSECA e ROCHA, 2004).

Entidades de padronização internacionais normatizaram os bioensaios com *Chironomus riparius* (ASTM, 2000; USEPA, 2000) e *Chironomus tentans* (ASTM, 2000). No Brasil, os testes de toxicidade utilizando larvas de Chironomidae para avaliação da qualidade dos sedimentos ainda não são padronizados. No entanto, muitos trabalhos já as utilizam como organismos-teste, sendo *Chironomus xanthus* a espécie mais empregada (FONSECA, 1997; PAMPLIN 1999; DORNFELD, 2006; ALMEIDA, 2007; ZORATTO, 2007).

A espécie *C. xanthus* foi descrita por Rempel, em 1939, e apresenta sinonímia ao *Chironomus domizzi* Paggi, 1977 e *Chironomus sancticaroli* Trivinho-Strixino e Strixino, 1981. A distribuição geográfica desta espécie é restrita ao Brasil e Argentina (FONSECA e ROCHA, 2004). Por ser uma espécie nativa e por ocorrer no Estado de São Paulo (TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO, 1982), *C. xanthus* possui grande relevância ecológica e regional (ARAÚJO *et al.*, 2006a).

TRIVINHO-STRIXINO e STRIXINO (1982) iniciaram o desenvolvimento da metodologia de cultivo do *C. xanthus* e evidenciaram a facilidade de sua manutenção em laboratório. A partir de então, estudos buscam uma forma de melhorar a técnica de cultivo e manutenção do organismo, bem como avançar na compreensão da biologia e comportamento desta espécie. Este esforço vem auxiliar a padronização de protocolos de testes de toxicidade com larvas de *C. xanthus* como organismo-teste (FONSECA, 1997; ALMEIDA, 2002; FONSECA e ROCHA, 2004).

### ***Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera – Daphniidae)**

A ordem Cladocera, que abriga a família Daphniidae, constitui um grupo essencialmente de água doce. Com representantes de hábito bentônico e também planctônico, os Cladocera apresentam alta produtividade secundária e, juntamente com os outros grupos que compõem o zooplâncton, representam um importante

papel na cadeia alimentar, servindo como alimento para larvas, alevinos de peixes, peixes e aves (ABRANTE e GONÇALVES, 2003).

Os Cladocera apresentam ampla distribuição geográfica, sendo os endemismos muito mais raros neste grupo do que entre os Copepoda ou Rotifera, dois grupos também importantes dentro do plâncton de água doce. Dentre os Cladocera encontrados no Brasil, estudos dão maior foco às espécies de *Daphnia* (ROCHA e MATSUMURA-TUNDISI, 1990, FONSECA, 1991) e *Ceriodaphnia* (FONSECA, 1991; MELÃO, 1997; RIETZLER, 1998).

Diversas espécies de Cladocera são organismos sensíveis e já foram padronizados como organismos-teste para estudos em ecotoxicologia. A USEPA (2002a) utiliza *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia pulex* e *Daphnia magna* como organismos-teste para testes de toxicidade aguda e a USEPA (2002b) recomenda *C. dubia* em testes de toxicidade crônica. No Brasil, o gênero *Daphnia* spp é normalizado para testes de toxicidade aguda (ABNT, 2004), e o gênero *Ceriodaphnia* spp para testes de toxicidade crônica (ABNT, 2005).

No Estado de São Paulo, as espécies nativas *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii* foram testadas em estudos ecotoxicológicos substituindo as espécies de regiões temperadas. Estes estudos mostraram que as espécies nativas são igualmente ou até mais sensíveis do que as espécies exóticas (FONSECA, 1998), dependendo das substâncias de referência.

A espécie *C. silvestrii*, como membro da família Daphniidae, é uma espécie planctônica filtradora e reproduz-se partenogeneticamente. O uso desta espécie em testes de toxicidade cresceu desde 1984, principalmente em testes de toxicidade agudos e crônicos com efluentes industriais e água superficial (BOTTA-PASCHOAL, 2002). As espécies do gênero *Ceriodaphnia* são em geral menores e com ciclo de vida mais curto se comparadas com espécies do gênero *Daphnia* da mesma família, também muito utilizado em testes de toxicidade, o que permite maior rapidez nos testes crônicos. Apesar de no Brasil, as espécies de *Ceriodaphnia* serem indicadas principalmente para testes crônicos, estes organismos podem responder muito bem a toxicidade aguda, dependendo dos objetivos do trabalho, e por isso muitas vezes são utilizados também em testes agudos.



## ***Vibrio fischeri* (Sistema Microtox®)**

Anteriormente conhecida como *Photobacterium phosphoreum*, a *Vibrio fischeri* é uma bactéria marinha, bioluminescente, anaeróbia facultativa e gram-negativa (PAIVA, 2004). A bactéria *V. fischeri* pode ser encontrada nos oceanos em vida livre ou associada a outros organismos marinhos (RODRIGUES e UMBUZEIRO, 2004).

A luminescência emitida pelo organismo *V. fischeri* é o grande ponto de interesse do uso desta bactéria em estudos ecotoxicológicos. A bioluminescência pode ser entendida como a emissão de luz visível devido ao complexo enzima-substrato (luciferase-luciferina) dentro do citoplasma celular de organismos vivos. No caso da *V. fischeri*, os componentes requeridos para bioluminescência são FMNH<sub>2</sub> (Flavino Mononucleotídeo reduzido), uma cadeia de aldeído alifático (RCHO), oxigênio e uma luciferase da bactéria (SANTOS *et al.*, 1993). A reação provoca a liberação do excesso de energia livre na forma de luz azul-esverdeada ( $\lambda = 490\text{nm}$ ). De forma simplificada, esta reação pode ser esquematizada como na FIGURA 1.

FIGURA 1. Reação metabólica do processo de bioluminescência em *V. fischeri* (PELOSI e FRANCHI, 2003).



A bioluminescência da bactéria está diretamente relacionada com seu estado metabólico. A luz total produzida na reação acima descrita é proporcional à quantidade de cada um dos substratos (FMNH<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, RCHO) quando eles estão em quantidade limite (SANTOS *et al.*, 1993).

Outro fator importante na expressão da luminescência da bactéria *V. fischeri* é a sua alta dependência com a densidade celular. Bactérias que são encontradas em vida livre no oceano não apresentam emissão de luz. A luminescência é apenas observada em bactérias presentes em aglomerados com alta concentração celular, como quando associadas aos órgãos luminosos de organismos marinhos, como peixes e lulas.

O processo de controle de emissão de luz, dependente da densidade celular, é ativado por auto-indução, a qual envolve a ligação de uma proteína ativadora transcritora com um sinal molecular auto-indutor que é liberado pela bactéria, no ambiente. Quando a *V. fischeri* é encontrada em vida livre nos oceanos, a concentração celular é menor que  $10^2$  células/mL. Neste caso, o auto-indutor difunde no ambiente resultando em ausência de luminescência. Em ambientes com alta concentração celular, ou seja, entre  $10^{10}$  e  $10^{11}$  células/mL, o auto-indutor acumula à concentração crítica necessária para expressão gênica e síntese da enzima luciferase (SCHAEFER *et al.*, 1996; STEVENS e GREENBERG, 1997).

O uso da bactéria *P. phosphoreum/V. fischeri* em testes de toxicidade foi desenvolvido inicialmente para avaliara a toxicidade de efluentes industriais por Bulich, em 1979 (UMBUZEIRO e RODRIGUES, 2004). Desde então o método foi aperfeiçoado e utilizado para estudos ecotoxicológicos de amostras ambientais (água, sedimentos e solos) além da avaliação de efluentes industriais (DE ZWART e SLOOFF, 1983; BROUWER *et al.*, 1990; GUZELLA, 1998; BOLUDA *et al.*, 2002; ARAÚJO *et al.*, 2006b; MCCREADY *et al.*, 2006).

O teste de toxicidade aguda com *V. fischeri* é considerado uma alternativa eficiente devido à correlação que apresenta com outros bioensaios que utilizam peixes e invertebrados, e pela rapidez de obtenção dos resultados (KAISER, 1998). Estudos de correlação entre resultados de toxicidade com *V. fischeri* e outros organismos aquáticos, inclusive de água doce, são bastante numerosos, o que proporciona maior confiança na utilização deste microrganismo em testes ecotoxicológicos (KAISER e PALABRICA, 1991; MUNKITTRICK *et al.*, 1991; ZHAO *et al.*, 1993; KAISER *et al.*, 1994).

A Beckman Instruments Inc. patenteou o método do testes de toxicidade com *V. fischeri* e iniciou sua comercialização como Sistema Microtox<sup>®</sup>, em 1982. Hoje, a empresa Azur Environment representa o Sistema Microtox<sup>®</sup> internacionalmente (COELHO, 2006). Os testes com Sistema Microtox<sup>®</sup> são simples e reprodutíveis, porém a grande vantagem está no fato de que após a exposição a uma pequena quantidade da amostra, o organismo responde rapidamente a um vasto numero de substâncias. Internacionalmente o teste de toxicidade com *V. fischeri* é padronizado por diversas instituições, como ISO (1998a; 1998b; 1998c). No Brasil, e padronização é feita por CETESB (2001).

O bioensaio agudo que utiliza *V. fischeri* como reagente biológico é baseado na medição da luminescência emitida por uma cultura de bactérias. Como a bioluminescência da bactéria está diretamente relacionada ao estado metabólico celular, qualquer substância tóxica que afete algum processo enzimático da produção de luz pela bactéria acarreta a diminuição da luminescência. Esse decréscimo da quantidade de luz emitida é proporcional à toxicidade da amostra (RODRIGUES, 2006).

### **1.1.2 Testes de toxicidade**

Os diferentes testes de toxicidade englobam processos toxicológicos básicos utilizados na toxicologia clássica (RAND *et al.*, 1995). O efeito tóxico de um agente só será produzido no organismo teste se a interação com o receptor biológico apropriado ocorrer em dose e tempo suficientes para quebrar a homeostasia, ou seja, equilíbrio, do organismo. Uma série de processos é necessária para que o organismo manifeste um sintoma a partir do contato com o agente tóxico. Estes processos podem ser seqüenciados e definidos, de forma simplificada, como:

- Exposição: duração em que o organismo está exposto ao agente tóxico, via de exposição, concentração e biodisponibilidade do agente durante o período de exposição;
- Toxicocinética: compreende a absorção, distribuição, metabolização e eliminação (excreção) da porção biodisponível do agente tóxico pelo organismo;
- Toxicodinâmica: fase relacionada com a resposta biológica devido à ação do agente tóxico.

Os testes de toxicidade podem ser realizados com diferentes períodos de exposição, dependendo da resposta biológica que se está investigando. Os testes de toxicidade aguda expõem o organismo ao agente tóxico por um curto período em relação ao tempo de vida do organismo e usualmente são avaliadas a letalidade e os efeitos que precedem à morte do organismo teste (ADAMS, 1995; RAND e PETROCELLI, 1985). Os testes de toxicidade crônica expõem o organismo por um período de tempo maior (uma exposição de mais de 10 % da duração da vida do

organismo), abrangendo a totalidade do seu ciclo de vida ou parte dele, com concentrações subletais do agente tóxico. Com os testes crônicos podem ser avaliadas diversas variáveis finais ou *endpoints* como distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais (reprodução, crescimento, etc), dependendo da fase do ciclo de vida do organismo e da espécie em questão (RAND *et al.*, 1995; BURTON e MACPHERSON, 1995).

Os resultados de testes ecotoxicológicos podem ser expressos basicamente das seguintes formas (ADAMS, 1995):

- Testes de toxicidade aguda:

*CE50* – Concentração Efetiva Média: concentração mediana efetiva da amostra que causa efeito adverso a 50 % dos organismos-teste, nas condições do teste;

*CL50* – Concentração Letal Média: concentração mediana letal da amostra a 50 % dos organismos-teste, nas condições do teste.

Ambas, *CE50* e *CL50*, são expressas em  $\text{mg L}^{-1}$  ou porcentagem da amostra testada, assim quanto menor a concentração de um composto ou de uma amostra capaz de causar efeito deletério maior sua toxicidade. O nível de efeito de 50 % é utilizado por ser uma resposta mais reprodutível e que pode ser estimada com maior confiança, mas o nível de efeito de 20 % também pode ser utilizado.

- Testes de toxicidade crônica:

*CENO (NOAEL/NOEL)* – Concentração de Efeito não Observado: maior concentração do agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo ao organismo-teste, nas condições do teste.

*CEO (NOAEL/LOEL)* – Concentração de Efeito Observado: menor concentração do agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo ao organismo-teste, nas condições do teste.

O estudo das alterações causadas pelas substâncias químicas tem por objetivo estabelecer as relações dose-efeito e dose-resposta que fundamentam todas as considerações toxicológicas necessárias para avaliação do risco. Na toxicologia, o termo 'efeito' denomina uma alteração biológica e o termo 'resposta' indica a proporção de uma população que manifesta um efeito definido (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008). Segundo esta terminologia, a resposta é a taxa de incidência de um efeito. Por exemplo, pode-se dizer que o valor de *CE50* é a

dose que causará uma resposta de 50 % em uma população em que se estuda o efeito letal de uma substância química.

As relações dose-resposta são representadas por curvas, em geral sigmóides, como o exemplo apresentado na FIGURA 2. A curva dose-resposta mostra que cada indivíduo de uma população tem uma “tolerância” própria e requer certa dose antes de responder com um efeito. A princípio, existe tanto uma dose baixa a qual nenhum organismo responderá à exposição como uma dose alta a qual todos responderão.

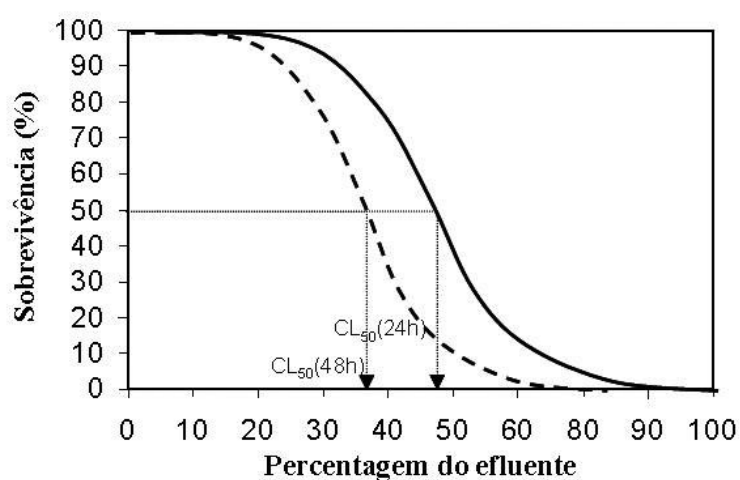


FIGURA 2. Curva dose-resposta hipotética. Os valores de CL50 podem ser estimados por simples interpolação gráfica (extraído de MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008).

Os estudos relativos à exposição química, objetivando medidas de prevenção dos efeitos nocivos, estabelecem uma medida quantitativa da relação entre a magnitude da exposição ao agente químico com o tipo e grau de resposta em uma população exposta a esse agente. É somente com base nessa relação que se pode, seguramente, permitir uma dose tolerável do agente nocivo, em algum nível acima do zero, de tal modo que uma fração significativa do grupo exposto não experimente um efeito indesejável (ZAGATTO, 2006b).

A ecotoxicologia tem avançado no estudo de outras ferramentas, que não os testes agudos e crônicos, para auxiliar na avaliação de risco e também para avaliar e quantificar a toxicidade de amostras ambientais. Um exemplo desse avanço é o uso cada vez mais freqüente de biomarcadores (AMORIM, 2003).

Os biomarcadores são utilizados em estudos que visam avaliar indicadores de alterações biológicas prematuras, ou seja, antes que efeitos provocados por um agente químico sejam observados em níveis de organização superior, como população, comunidade e ecossistema. Biomarcadores são, de forma geral, quaisquer respostas biológicas decorrentes de reações químicas mediadas tanto dentro do organismo como em seus produtos, indicando um desvio das condições normais não detectados em organismos intactos (ADAMS, 1995). Segundo VAN DER OOST *et al.* (2003) os principais parâmetros utilizados como biomarcadores são enzimas e produtos de biotransformação, que podem ser detectados em fezes, urina, pêlos, etc; parâmetros celulares de estresse oxidativo; proteínas de estresse; parâmetros hematológicos, reprodutivos, imunológicos, endócrinos neuromusculares e de genotoxicidade.

A maioria dos trabalhos publicados no Brasil, que utilizam os biomarcadores com foco ecotoxicológico, aplica peixes e bivalves como modelos em estudos de contaminação aquática. Os dois grupos de animais citados acima são frequentemente objeto de estudos por conterem mecanismos acentuados de bioconcentração e biomagnificação (JONSSON *et al.*, 2002; CAMARGO e MARTINEZ, 2007; CASTRO *et al.*, 2008).

Outra abordagem empregada nos testes de toxicidade são os testes de comunidade que podem ser realizados *in situ*, através de mesocosmos ou com uso de gaiolas apropriadas, e também em laboratório com auxílio de microcosmos. Um protocolo de bioensaio em microcosmo de água doce, que inclui organismos pelágicos e bentônicos, foi desenvolvido por CLÉMENT e CADIER (1998).

Os bioensaios com comunidade, ou testes multi-espécies, permitem que diferentes espécies de diferentes níveis tróficos sejam simultaneamente expostas ao poluente ou amostra a ser avaliada (TRIFFAULT-BOUCHET *et al.*, 2005). Nestes testes, os organismos podem interagir uns com os outros e, conseqüentemente, influenciar a resposta de cada espécie à amostra testada, bem como alterar a partição dos poluentes entre os componentes bióticos e abióticos (sedimento, água intersticial dos sedimentos, interface sedimento-água e biota) (CLÉMENT *et al.*, 2004).

Exemplo deste tipo de estudo é o experimento em microcosmos desenvolvido por GYEDU-ABABIO e BAIRD (2006). Estes autores utilizaram espécies de Nematoda para avaliar as respostas de densidade, diversidade e composição da

comunidade frente à contaminação por metais, em diferentes níveis. Bioensaios como estes são de grande relevância ecológica e podem auxiliar na compreensão da dinâmica de uma comunidade em situação real de contaminação. Desta forma, os bioensaios com comunidade podem, ainda, ajudar na identificação e padronização de organismos indicadores da qualidade ambiental.

## **1.2 Eutrofização artificial**

As atividades antrópicas, associadas ao crescimento populacional das últimas décadas, são apontadas como principais fontes de poluição e têm sido foco na compreensão das causas do desequilíbrio ambiental e esgotamento de recursos naturais. Os recursos hídricos estão entre os mais impactados pelas atividades humanas. Neste sentido, a eutrofização artificial, mais freqüente em lagos e reservatórios, tem se tornado uma das maiores ameaças a corpos d'água continentais (REBOUÇAS, 1999).

A eutrofização artificial é comum em ambientes aquáticos localizados próximos ou inseridos nos centros urbanos ou áreas adjacentes. Lagos e reservatórios urbanos são total ou predominantemente afetados pela população urbana e toda bacia de drenagem deste tipo de corpo hídrico é dominada por áreas urbanizadas. No entanto, mesmo que a área urbana exerça a maior pressão sobre corpos d'água urbanos, eles também podem receber influência de regiões agriculturáveis (BARICA, 1992).

Corpos aquáticos com estas características recebem grande aporte de esgotos domésticos, efluentes e descargas industriais consideradas fontes pontuais de poluição, ou seja, possível de serem determinadas e localizadas (BAIRD, 2005). Além das fontes pontuais, os corpos d'água urbanos são receptores do escoamento das águas pluviais que arrastam para o ambiente aquático resíduos diversos resultantes das atividades antrópicas. Este tipo de fonte, chamada de poluição difusa, é de difícil controle, e nesta categoria são enquadradas, principalmente, as atividades de agricultura e pecuária (CARPENTER *et al.*, 1998a; PARRY, 1998).

Decorrente de diversas fontes de poluição, o enriquecimento das águas de lagos e reservatórios, principalmente por compostos nitrogenados e fosfatados, aceleram o processo de aumento do grau de trofia desses ambientes aquáticos (WETZEL, 2001). Naturalmente, os processos que ocorrem em uma bacia

hidrográfica, como os efeitos do vento, erosão por chuva, adição de material biológico, entre outros, podem causar o aumento progressivo da sedimentação, das concentrações de fósforo, nitrogênio e matéria orgânica nos corpos d'água. No entanto, ao contrário do que é observado no processo da eutrofização artificial, a eutrofização natural pode levar algumas centenas de anos para acontecer (TUNDISI e TUNDISI, 2008).

A partir do enriquecimento de nutrientes e matéria orgânica, os corpos d'água passam a ter um aumento excessivo da produtividade primária, com freqüente incidência de florações de microalgas, principalmente cianobactérias, e aumento de macrófitas flutuantes e enraizadas (HUSZAR *et al.*, 2005). A estimulação de produção de matéria orgânica e a decomposição da biomassa fitoplanctônica criam uma elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e queda da concentração de oxigênio dissolvido na coluna d'água (BEGON *et al.*, 2006; RICKLEFS, 2001). Todos esses fatores associados levam à morte de peixes e outros organismos aquáticos aeróbios, perda de habitat e perda da diversidade biológica (HUSZAR *et al.*, 2005; WETZEL, 2001).

Segundo COOKE *et al.* (1993), a eutrofização pode ser mais holisticamente definida de forma que evidencie todas as forças que dirigem o processo. Para estes autores, o conceito de eutrofização apóia no aporte de matéria orgânica e inorgânica dissolvida e particulada em taxas suficientemente grandes para aumentar o potencial de produção biológica do corpo d'água e conduzir à redução do volume total da bacia a que aquele corpo d'água está inserido.

De qualquer forma, para o interesse humano, a principal consequência associada à eutrofização é perda do ambiente aquático como possível fonte de recurso hídrico. Lagos e reservatórios eutrofizados apresentam alteração e degradação da qualidade da água, com mudanças na cor, turbidez e composição. Ecossistemas aquáticos eutrofizados são, portanto, impróprios para abastecimento da população, uso industrial e recreação (AZEVEDO-NETO, 1988), dentre outros fins.

### **1.2.1 Nitrogênio e fósforo em ecossistemas aquáticos**

O nitrogênio, fundamental na síntese de proteínas e aminoácidos, é um dos elementos mais importantes e com maior demanda em ambientes aquáticos. O ciclo



do nitrogênio é bastante complexo e tem os processos biológico como fatores centrais na transferência do elemento entre os diversos compartimentos do ciclo.

O elemento pode variar entre numerosos estados de oxidação, do -3 ao +5 (MAIER *et al.*, 2000). As formas mais comuns de nitrogênio são as do estado de oxidação -3 (íon amônio e nitrogênio orgânico), 0 (nitrogênio elementar), +3 (nitrito) e +5 (nitrato). Outras formas comuns de nitrogênio incluem os estados -1 (NH<sub>2</sub>OH, intermediário na oxidação da amônia), +1 (N<sub>2</sub>O, intermediário da redução do nitrito), +2 (NO, outro intermediário na redução do nitrito), e +4 (NO<sub>2</sub>) (VACCARI *et al.*, 2006).

As principais fontes de nitrogênio para a assimilação biológica são nitrato, nitrito, amônio e os compostos nitrogenados dissolvidos, como uréia, aminoácidos livres e peptídeos (TUNDISI e TUNDISI, 2008). As fontes assimiláveis de nitrogênio são essenciais para a manutenção da produtividade, mas não são frequentemente identificadas como fatores limitantes em ambientes aquáticos (WETZEL, 2001). A fonte mais acessível de nitrogênio na biosfera é o nitrogênio elementar gasoso, que representa 78 % do volume total da atmosfera (VACCARI *et al.*, 2006). Apesar da habilidade de utilizar esta fonte de nitrogênio ser limitada a alguns pequenos grupos de bactérias fotoautotróficas, eles são abundantes nos ambientes naturais (MANAHAN, 1984).

O fósforo é outro nutriente essencial à produtividade primária, uma vez que é componente de ácidos nucleicos e da adenosina trifosfato. O ciclo do fósforo é menos complexo do que o ciclo do nitrogênio e o fluxo deste elemento dependem basicamente dos processos geoquímicos nas bacias hidrográficas (TUNDISI e TUNDISI, 2008).

As formas de fósforo encontradas na natureza são diversas, mas a forma assimilável e comumente associada à produtividade primária é a forma inorgânica solúvel do fósforo, o íon ortofosfato (STUMM e MORGAN, 1996). A disponibilidade do fósforo depende das rochas fosfatadas e dos ciclos internos dos lagos, em que a decomposição e a excreção de organismos são partes importantes (TUNDISI e TUNDISI, 2008).

Uma grande porcentagem de fósforo nos sistemas aquáticos está na forma orgânica ou adsorvido a partículas orgânicas e inorgânicas. O íon ortofosfato forma complexos estáveis com íons metálicos em águas naturais dependendo das concentrações relativas de fosfato, dos íons metálicos, do pH e da presença de

outros ligantes (sulfato, carbonato, fluoreto e espécies orgânicas). Entre os íons metálicos de maior capacidade de adsorção do fósforo estão o alumínio, ferro e manganês, que alteram a disponibilidade do íon ortofosfato na coluna d'água (WETZEL, 2001).

Os sedimentos também são um compartimento importante no ciclo do fósforo em um ambiente aquático. A concentração de fósforo presente nos sedimentos pode ser muito maior do que a existente na coluna d'água. A habilidade desta matriz em reter o fósforo está, entre outros fatores, relacionada com as condições da água da coluna e com os processos biológicos (bioturbação, ação de bactérias oxidantes e redutoras) que alteram a situação de equilíbrio entre sedimentos e água de interface sedimento-coluna d'água (WETZEL, 2001).

De forma geral, sob condições de aerobiose, o fósforo da coluna d'água precipita após ser adsorvido ao hidróxido de ferro ( $\text{FeOOH}_{(s)}$ ) e óxido de manganês ( $\text{MnO}_{2(s)}$ ), permanecendo imobilizado no sedimento (WEHRLI *et al.*, 1993). No entanto, sob anoxia a queda no potencial redox dos sedimentos leva à redução do manganês (IV) e do ferro (III) ao manganês (II) e ferro (II) (formas solúveis e móveis destes elementos). Como consequência desta redução, há liberação do fósforo associado aos óxidos-hidróxidos insolúveis (FeIII e MnIV) (SCHAUSER *et al.*, 2006), o que provoca o aumento na concentração deste nutriente na coluna d'água.

O enriquecimento exagerado de lagos e reservatórios por fósforo e nitrogênio são cruciais para o processo de eutrofização. No entanto, o fósforo é considerado o principal fator limitante para a produtividade em ambientes aquáticos naturais devido à sua baixa disponibilidade em relação à demanda (SCHOLTEN *et al.*, 2005). Por outro lado, apesar de altas concentrações de nitrogênio também contribuírem para o processo, ele não é frequentemente apontado como limitante devido à fixação do  $\text{N}_2$  atmosférico mediada, predominantemente, por cianobactérias (VACCARI *et al.*, 2006).

### **1.2.2 Restauração de ambientes aquáticos eutrofizados**

Todo programa de restauração de ambientes aquáticos tem como requisito ações de manejo com foco em toda bacia a que o corpo d'água está inserido (CARPENTER *et al.*, 1998b). Algumas lacunas no conhecimento científico, nos

mecanismos institucionais e razões sociais geram, muitas vezes, obstáculos para a implantação de programas de restauração (CARPENTER e LATHROP, 1999).

A restauração de ambientes aquáticos é muito particular a cada sítio de estudo e é embasada nas diversas causas da degradação do corpo hídrico. Devido às conseqüências imediatas causadas pela eutrofização, muitos esforços têm sido despendidos no controle e remediação deste processo. Desta forma, a entrada de excesso de nutrientes nos corpos d'água recebe mais atenção nos planos de restauração do que as outras causas de degradação (CARPENTER e LATHROP, 1999).

O controle de fontes pontuais de poluição é imprescindível do ponto de vista do manejo e recuperação de corpos d'água eutrofizados. Neste aspecto, destacam-se os tratamentos de efluentes industriais e o tratamento terciário de esgotos domésticos (BRAGA *et al.*, 2005). No entanto, o tratamento avançado de esgoto é de fato eficiente apenas quando toda a água residual urbana é coletada em um sistema de tratamento (WETZEL, 2001).

Apesar das dificuldades de controle das fontes difusas de poluição, algumas medidas de controle em relação a elas também são necessárias. A redução do uso de fertilizantes em áreas agrícolas, a recomposição de matas ciliares e o controle da drenagem urbana são recomendados (BRAGA *et al.*, 2005). O controle da poluição difusa requer, portanto, uma reorganização nos usos do solo que pode ser de difícil implantação, por razões econômicas e políticas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992).

No entanto, mesmo que fontes externas de poluição sejam controladas, parcial ou totalmente abatidas, outras medidas são necessárias para que haja um controle efetivo da eutrofização. WETZEL (2001) enfatiza que no manejo de ambientes eutrofizados uma das formas de controle é a diminuição da biomassa de macrófitas aquáticas, abundantes nesses ambientes. Apesar de exercer papel na ciclagem de nutrientes, as macrófitas geram detritos potencialmente importantes para a decomposição e autofertilização do sistema aquático (POMPÊO, 2008).

Os métodos de controle do crescimento de macrófitas são diversos e devem ser escolhidos com foco nos usos múltiplos requeridos ao corpo d'água nas vantagens e desvantagem que podem oferecer ao ecossistema. Os métodos empregados podem ser remoção manual, remoção mecânica, controle biológico, controle químico, dentre outros (GIBBONS *et al.*, 1994 *apud* POMPÊO, 2008). De

qualquer forma, apenas o controle de entrada de nutrientes no corpo d'água não é efetivo neste caso. A demanda por nutrientes exercida pelas macrófitas é suprida predominantemente pelos sedimentos e não pela coluna d'água (COOKE, 1993).

Além disso, os métodos de remoção ou inativação de nutrientes já presentes nos corpos d'água também recebem atenção nos programas de restauração (COOKE, 1993). Os métodos de inativação ou remoção de nutrientes dão foco aos sedimentos de lagos e reservatórios que podem continuar atuando como fonte de nutrientes para a coluna d'água, causando a chamada fertilização interna (VACCARI *et al.*, 2006).

De forma geral, as alternativas associadas ao controle da eutrofização enfatizam prioritariamente o controle do fósforo e não do nitrogênio no controle da eutrofização. A condição de anoxia do hipolimnion de corpos d'água eutrofizados é favorável à liberação de íons do sedimento para a coluna d'água (MOZETO *et al.*, 2001; SOARES e MOZETO, 2006). Com a liberação de íons ortofosfato, o processo de eutrofização permanece caso os sedimentos de ambientes eutrofizados não sejam tratados (WEHRLI, 1993).

Dentre as técnicas de tratamento dos sedimentos estão a remoção dos sedimentos por dragagem; o capeamento físico dos sedimentos contaminados por material granular limpo, como areia; capeamento químico com substâncias capazes de precipitar e inativar o fósforo; oxidação do sedimento por adição de receptores alternativos de elétrons, como o nitrato (MURPHY *et al.*, 1999).

Alguns produtos comerciais, como o Phoslock<sup>®</sup> produzido a partir de bentonita modificada, já são empregados em diversos estudos e têm gerado resultados positivos na inibição da liberação de fósforo dos sedimentos para a coluna d'água (ROBB *et al.*, 2003; MCINTOSH, 2007). O Phoslock<sup>®</sup> é comercializado pela *Phoslock Water Solution Ltda.* e foi desenvolvido, na Austrália, pela *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)*. A aplicação do Phoslock<sup>®</sup> é realizada na coluna d'água e enquanto o produto precipita arrasta 99% do ortofosfato, na forma de um complexo insolúvel. Após precipitação, o produto forma uma camada na superfície dos sedimentos de cerca de 1-3 mm capaz de adsorver o fósforo que é liberado dos sedimentos.

Outra forma utilizada para minimizar o aporte interno de fósforo para coluna d'água é o capeamento do sedimento com sais de alumínio, como o sulfato de alumínio. O tipo de ação do sulfato de alumínio é semelhante ao produto Phoslock<sup>®</sup>,

citado anteriormente. O sal é adicionado à coluna d'água formando fosfato de alumínio insolúvel e oxi-hidróxidos de alumínio que adsorvem o fósforo e precipitam na coluna d'água. Além disso, o sulfato de alumínio promove o selamento dos sedimentos impedindo o avanço da redissolução e liberações de nutrientes e contaminantes dos sedimentos para a coluna d'água (KLAPPER, 1991; FAITHFULL *et al.*, 2005).

O uso de sulfato de alumínio, no entanto, é limitado devido a alta toxicidade do alumínio em baixos valores de pH. Em pH abaixo de 5,5, há solubilização do alumínio na forma de  $Al^{+3}_{(aq)}$  livre, sob risco de causar sérios prejuízos à biota aquática. Segundo BAKER (1982), apud COOKE *et al.* (1993), concentrações de 0,1 a 0,2 mg Al L<sup>-1</sup> são tóxicas para peixes em pH 4,5 e 5,5. Com pH entre 6 e 8 o composto dominante é Al(OH)<sub>3</sub>, ocorrendo a inativação do fósforo, como desejado.

Quando o sal é adicionado em ambientes pouco tamponados o pH cai drasticamente e há portanto predomínio de espécies solúveis de alumínio. Em águas com baixa ou moderada alcalinidade (<30 a 50 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) a adição de sulfato de alumínio, mesmo em pequenas doses, provoca diminuição do pH e conseqüentemente aumento das condições tóxicas do ambiente.

Decorrente do exposto acima, poucos estudos são encontrados na literatura, em que a tecnologia da adição de alumínio tenha sido feita com sucesso em ambientes de baixa capacidade tampão. SMELTZER *et al.* (1999) relatam um estudo com adição de sulfato de alumínio no Lake Morey, em que foi necessária a adição de tampão mesmo em águas com alcalinidade de 35 a 45 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, considerada pelos autores como moderadamente baixa.

### **1.2.3 Sedimentos: tratamento com nitrato**

Um estudo pioneiro, na tentativa de imobilização do fósforo nos sedimentos e conseqüente diminuição de sua liberação para a coluna d'água, foi desenvolvido por RIPL (1976). Com o objetivo de restaurar o Lago Lillesjön, na Suécia, Ripl realizou um procedimento de aplicação de nitrato de cálcio em solução, nos sedimentos do lago.

O trabalho de Ripl leva em consideração que, em ambientes reduzidos, a degradação da biomassa nos sedimentos ocorre através da utilização de receptores alternativos de elétrons, pela respiração de bactérias anaeróbias facultativas

(MARSDEN, 1989). Segundo este modelo, os receptores alternativos ao oxigênio preferencialmente reduzidos sob anoxia são o nitrato, manganês (IV), ferro (III), sulfato etc (MCAULIFFE *et al.*, 1998).

Ou seja, nos sedimentos existe uma seqüência de processos redox do mais eletropositivo para o mais eletronegativo, mediados microbiologicamente:  $O_2/H_2O > NO_3^-/N_2 > MnO_2/Mn^{+2} > Fe(OH)_3/Fe^{+2} > SO_4^{-2}/HS^- > CO_2/CH_4$  (STUMM e MORGAN, 1996). Segundo esta ordem de receptores de elétrons, o suprimento de nitrato no sedimento deve, por conseqüência, aumentar a ação de bactérias desnitrificantes que utilizam o nitrato, termodinamicamente mais vantajoso, como receptor, e minimizar a liberação de fósforo pela formação/manutenção dos complexos óxidos-hidróxidos de ferro que promovem a retenção, por adsorção, de P como íon ortofosfato.

O método de restauração do sedimento descrito acima tem como perspectiva o  $CO_2$  e nitrogênio molecular ( $N_2$ ) como produtos finais da reação mediada pelas bactérias desnitrificantes. No entanto, produtos intermediários como nitrito ( $NO_2^-$ ), óxido nítrico (NO) e óxido nitroso ( $N_2O$ ) podem ser formados em determinadas condições ambientais (MADIGAN e MARTINKO, 2006; VAN RIJN *et al.*, 2006).

Do ponto de vista da restauração de ambientes contaminados, este tipo de tratamento tem sido foco nos processos de biodegradação de contaminantes orgânicos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), que podem ser utilizados como doadores de elétrons no processo da metabolização desassimilatória (ACTON e BARKER, 1992; MURPHY *et al.*, 1995). Além disso, a rápida oxidação das camadas superficiais dos sedimentos, acompanhada pelo processo de desnitrificação, também contribui para a diminuição de sulfetos e de nova formação desta espécie química que é a principal causa de problemas com odor em ambientes fortemente reduzidos. Sedimentos com baixo potencial redox são favoráveis a redução, por ação microbiana, do sulfato ( $SO_4^-$ ), receptor de elétrons, a gás sulfídrico ( $H_2S$ ), tóxico a organismos aquáticos (BABIN *et al.*, 2003), especialmente se o pH da água intersticial for bastante baixo ( $pH < pK=7,2$ ).

Desde os estudos de Ripl, em 1976, outros autores relatam a aplicação de nitrato em ambientes eutrofizados. FOY (1986) aplicou a mesma metodologia utilizada por Ripl em um lago eutrofizado na Irlanda. Neste estudo, Foy realizou experimento com *cores* retirados do ambiente e também experimentos *in situ*. Os experimentos em *cores* mostraram que a adição de nitrato nos sedimentos do White

Lough era mais eficiente quanto maior a aplicação, ou seja, na concentração máxima de aplicação ( $60 \text{ g N m}^{-2}$ ) maior foi a retenção de fósforo nos sedimentos, até o final do experimento de 200 dias. *In situ*, Foy realizou uma aplicação de  $23,7 \text{ g N m}^{-2}$ , o equivalente a 17% da quantidade de aplicação de Ripl ( $141 \text{ g N m}^{-2}$ ), e obteve resultados satisfatórios.

Outro exemplo bem sucedido da aplicação de nitrato é o trabalho de FEIBICKE (1997), no fiorde Schlei, Alemanha. O autor aplicou, em uma área experimental, a quantidade de  $140 \text{ g N m}^{-2}$ , em simples e dupla aplicação ( $280 \text{ g N m}^{-2}$ ). MCAULIFFE *et al.* (1998) avaliou o controle da liberação de fósforo sob aplicação de nitrato através de cores com material do estuário Harvey, na Austrália. Os resultados experimentais deste trabalho também foram satisfatórios, mas não evidenciaram a durabilidade do tratamento que foi eficiente até 30 dias.

Uma variação do método proposto por Ripl foi avaliado por WAUER *et al.* (2005a) e WAUER *et al.* (2005b) que aplicaram, em lagos alemães, uma substância conhecida comercialmente como Depox<sup>®</sup>. Esta fórmula comercial consiste em uma matrix coloidal de  $(\text{FeOOH})_n$  capaz de ligar-se ao  $\text{NO}_3^-$  na razão molecular de 0,3 (Fe:N) (PANNING *et al.*, 2001 *apud* WAUER *et al.*, 2005a). Os autores acima citados defendem que o tratamento de ambientes eutrofizados com Depox<sup>®</sup> é mais duradouro e mais eficiente do que o tratamento com nitrato de cálcio em solução. WAUER *et al.* (2005b) relatam que Depox<sup>®</sup> garante a retenção do fósforo nos sedimentos mesmo após 1 ano de aplicação do produto.

Internacionalmente, a empresa *Golder Associates* tem licença para a utilização da tecnologia de aplicação do nitrato através do sistema *Limnofix*. O *Limnofix* é uma tecnologia de tratamento de sedimentos de ambientes aquáticos contaminados, desenvolvida pelo *National Water Research Institute*, uma agência governamental canadense. A mais bem sucedida e documentada experiência de aplicação do *Limnofix* foi realizada no Hamilton Harbour, lago Ontário, Canadá. Desde então, a tecnologia é utilizada para vários fins como aumentar a biodegradação de compostos orgânicos, remoção de toxicidade provocada por sulfetos, controle de odores indesejáveis gerados em ambientes com excesso de sulfetos (GOLDER ASSOCIATES, 2003)

Embora estudos mais detalhados sobre aplicação do nitrato, e derivações, como forma de remediação de ambientes eutrofizados e contaminados venham sendo aperfeiçoados, não há, na literatura levantada, estudos sobre as possíveis

conseqüências ecotoxicológicas da adição do nitrato nos sedimentos de ambientes aquáticos. A poluição com altas concentrações de nitrogênio inorgânico pode, em sistemas limitados por nitrogênio, promover o crescimento fitoplanctônico excessivo durante a desnitrificação (CAMARGO e ALONSO, 2006; PETZOLD e UHLMANN, 2006). Outro ponto de interesse é a possível formação de nitrito e amônia através da adição excessiva de nitrato ou falta de condições ótimas para a utilização do mesmo como receptor de elétrons. Altas concentrações de nitrogênio inorgânico podem tornar o ambiente tóxico à vida aquática (SCHAUSER *et al.*, 2006).

Além disso, a oxidação de sulfetos favorece a disponibilidade de metais, precipitados a sulfetos (SVA), tornando-os disponíveis aos organismos aquáticos. A liberação de íons metálicos, em casos em que haja histórico de contaminação por metais, é preocupante do ponto de vista ecotoxicológico e um fator extra de toxicidade (HANSEN *et al.*, 1996).



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Realizar uma avaliação ecotoxicológica da aplicação de nitrato de cálcio em solução, como procedimento para remediação de sedimentos de um ambiente aquático eutrofizado (Represa Ibirité, Betim – MG).

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade aguda das amostras de água intersticial dos sedimentos e água de interface sedimento-água para o organismo *Ceriodaphnia silvestrii* e pelo sistema Microtox®, antes e após o tratamento com nitrato.
- Avaliar a toxicidade aguda das amostras de sedimentos da Represa Ibirité para o organismo *Chironomus xanthus*, antes e após o tratamento com nitrato.
- Compreender as principais conseqüências do uso da tecnologia de adição de nitrato aos sedimentos como forma de remediação da Represa Ibirité.
- Oferecer subsídios para a implantação futura de um programa integrado de remediação dos sedimentos desta represa.

### 3 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A Represa Ibirité (FIGURA 3) está situada na região metropolitana de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil), entre os municípios de Ibirité e Betim ( $19^{\circ} 07' 00'' - 20^{\circ} 02' 30''$  S/  $44^{\circ}07'30'' - 44^{\circ} 05' 00''$  W), área densamente povoada e industrializada. A represa foi construída em 1968, pela Petrobras (Petróleo Brasileiro S/A), com o objetivo de servir como manancial de captação de água para processos industriais da REGAP (Refinaria Gabriel Passos). Atualmente, ela é corpo receptor dos efluentes tratados da refinaria (via Córrego Pintados) e de todo o esgoto urbano não tratado da cidade de Ibirité e adjacências (via Ribeirão Ibirité). A citada represa foi objeto de intensos estudos nos últimos cinco anos (BARBOSA, 2003; MOZETO, 2003; MOZETO, 2004; BARBOSA, 2008; MOZETO, 2008; AZEVEDO, 2009).



FIGURA 3. Localização da Represa Ibirité e seus principais cursos d'água tributários.

Atualmente, a Represa Ibirité tem área superficial de  $2.837.777 \text{ m}^2$ , profundidade média da represa é de 16 m e volume de cerca de  $15 \times 10^6 \text{ m}^3$ . Desde a construção da represa até os dias atuais, o processo de assoreamento diminuiu consideravelmente a área e volume totais da represa que eram inicialmente de  $3.358.920 \text{ m}^2$  e  $20.571.000 \text{ m}^3$ , respectivamente (MOZETO, 2004).

A Represa Ibirité possui estratificação térmica/química de setembro a março/abril e desestratificação de abril/maio até agosto, o que evidencia um ambiente monomítico-quente, comum em reservatórios tropicais (BARBOSA, 2003). Os altos valores de fósforo total e ortofosfato obtidos nas amostras de coluna d'água, juntamente com a observação de florações intensas e periódicas de cianobactérias, corroboram a expectativa inicial do estado eutrófico do reservatório (BARBOSA, 2003; MOZETO, 2003; MOZETO, 2008).

O Ribeirão Ibirité, que drena a cidade de Ibirité, é a principal fonte de nutrientes à citada represa (MOZETO, 2004). Além disso, cálculos conservativos, aplicando a 1ª Lei de Fick, mostraram que os sedimentos da Represa Ibirité atuam como significativa fonte interna de fósforo e amônio para coluna d'água (MOZETO, 2003). Os fluxos de nutrientes ( $\text{NH}_4^+$  entre 90-127  $\text{mg cm}^{-2} \text{ano}^{-1}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$  entre 1,6-2,0  $\text{mg cm}^{-2} \text{ano}^{-1}$ ) determinados são significativos a ponto de comprometer a qualidade da água mesmo havendo um abatimento parcial ou total, das descargas pontuais e difusas de esgoto. Este dado evidencia a necessidade de estudos que tenham como objetivo a retenção do fósforo nos sedimentos e diminuição do fluxo deste íon para a coluna d'água.

Com relação aos estudos ecotoxicológicos na represa, procedimentos de avaliação e identificação da toxicidade (AIT) (do inglês: *TIE* ou *Toxicity Identification Evaluations*) com águas intersticiais dos sedimentos mostraram que as possíveis causas de toxicidade na represa são amônia e metais, possivelmente Cu e Ni (BARBOSA, 2008). Estudo de AIT realizado em janeiro de 2008 mostrou que as concentrações de amônia não ionizada encontradas nas amostras de água intersticial dos pontos coletados estavam entre 31 e 34  $\text{mg NH}_3 \text{L}^{-1}$  (MOZETO *et al.*, 2008). Nesta ocasião, os valores obtidos para amônia não ionizada foram muito superiores a faixa de sensibilidade citada em literatura para alguns Cladocera, como 1,18  $\text{mg NH}_3 \text{L}^{-1}$  para *Ceriodaphnia dubia* (ANDERSEN e BUCHLEY, 1998).

Neste mesmo estudo, a concentração encontrada para Cu nas águas intersticiais do ponto mais próximo da barragem foi de 0,01  $\text{mg L}^{-1}$ . O metal Ni, para o mesmo ponto amostrado, foi detectado em 0,03  $\text{mg L}^{-1}$ . Estes valores estão próximos ou acima das CE50 encontradas na literatura. Para *C. dubia* a CE50 de cobre é de 0,0095  $\text{mg L}^{-1}$  (MASUTTI, 2004) e para Ni e de 0,03  $\text{mg L}^{-1}$ . Os dados ecotoxicológicos apresentados no AIT foram reforçados pela análise da somatória de Valores-Guia de Unidades Tóxicas de Águas Intersticiais (VGUTAI) (USEPA,

2000) que foi superior a unidade (MOZETO *et al.*, 2008). O VGUTAI é calculado individualmente através da razão entre as concentrações de Cd, Cu, Pb, Zn e Ni das águas intersticiais e o *Final Chronic Value* (FCV), um valor padronizado que indica a concentração do metal que provoca mortalidade de 50 % dos organismos-teste. O resultado da somatória dos VGUTAI maior que 1 indica, se não existirem fases ligantes que possam atenuar a biodisponibilidade dos metais analisados, a possível manifestação de toxicidade dos sedimentos.

Em relação a compostos orgânicos, os valores de HPA e alcanos determinados nas amostras de sedimento do sítio de Ibirité em MOZETO (2008) e YAMADA (2006) apresentaram altas concentrações de *n*-C17 confirmando a presença de algas e evidenciando o significativo estado de eutrofização. Os hidrocarbonetos nos sedimentos apontam a coexistência de fontes de contaminação (pirogênica, petrogênica e biogênica), no entanto não há violação do nível limiar de efeitos biológicos adversos, TEL (*Threshold Effect Level*), para compostos orgânicos, mostrando que os sedimentos não apresentam potencial tóxico aos organismos a eles expostos, devido à presença de HPA (MOZETO, 2008).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido através de experimentos com microcosmos montados com amostras de sedimentos superficiais e água de interface sedimento-água da Represa Ibirité (Betim, MG). Os procedimentos de coleta de amostra, montagem dos microcosmos, testes de toxicidade e análises químicas são apresentados a seguir.

### 4.1 Coleta de amostras

Os sedimentos superficiais e água de interface sedimento-água, para a montagem de microcosmos, foram coletados de um ponto amostral próximo à barragem da Represa Ibirité (FIGURA 4). O ponto amostral ( $20^{\circ}01'24,8''S/44^{\circ}07'6,1''W$ ) foi escolhido por apresentar as maiores concentrações de ortofostato da coluna d'água ( $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ ) e água intersticial ( $0,48 \text{ mg L}^{-1}$ ); as maiores concentrações de fósforo total no sedimento ( $1.445,59 \text{ mg kg}^{-1}$ ); e granulometria com grande porcentagem de particulados finos (91 %), *i.e.* argila e silte. Outros dois pontos dentro da represa ( $20^{\circ}01'0,2''S/44^{\circ}06'32,9''W$  e  $20^{\circ}01'34,6''S/44^{\circ}06'24,5''W$ ) não mostraram as mesmas características do ponto próximo à barragem e, por isso, foram desconsiderados para coleta do presente estudo (MOZETO, 2008).

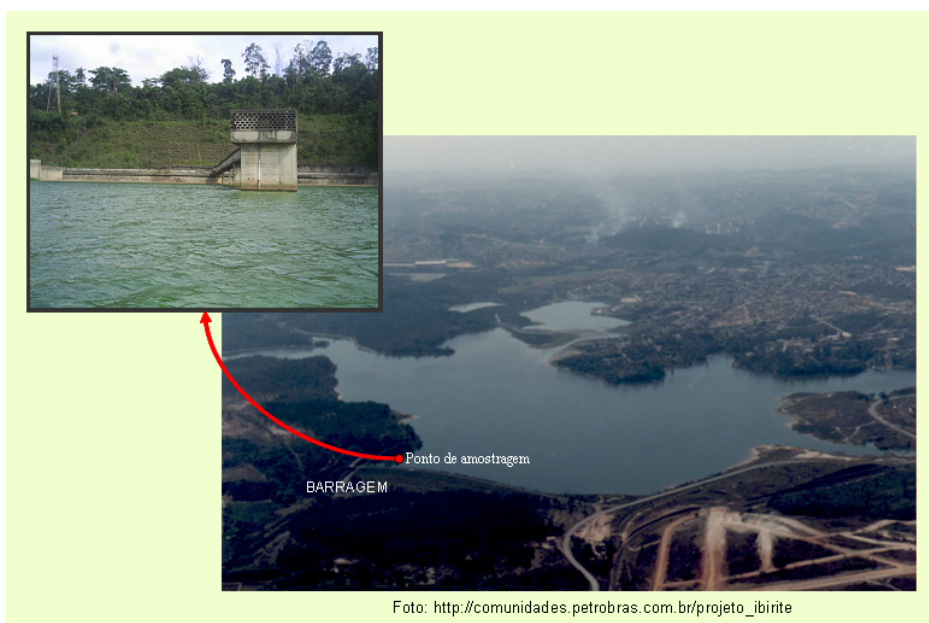


FIGURA 4. Foto aérea da Represa Ibirité, Betim, MG. No detalhe foto do ponto de amostragem escolhido para coleta de amostras para montagem dos microcosmos.

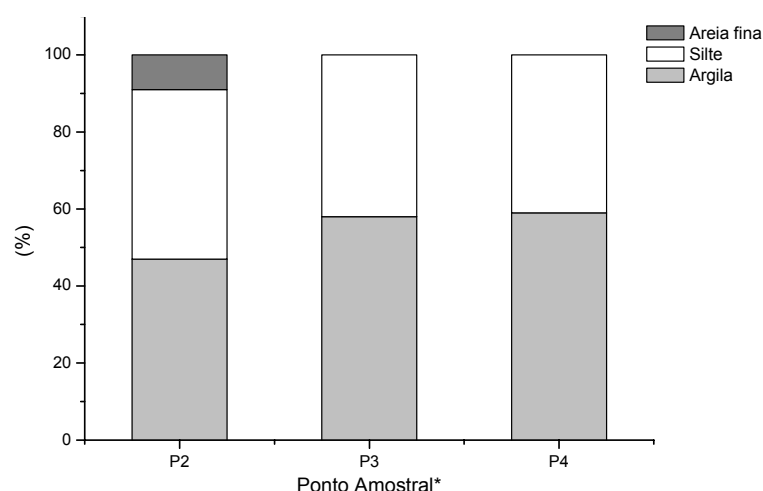
O levantamento de dados, acima citados, que deram subsídio para a definição do ponto amostral escolhido para este trabalho, foi realizado por MOZETO (2008). O objetivo específico de MOZETO (*op cit.*) foi a realização de uma confirmação de diagnóstico ambiental efetuado em trabalhos que transcorreram entre os anos de 2002 e 2004, já mencionados no item 3, desta dissertação. Para efeito de comparação, os dados de alguns analitos para três pontos da represa, avaliados por MOZETO (2008), estão apresentados no QUADRO 2 e na FIGURA 5.

QUADRO 2. Dados levantados por MOZETO (2008), para comparação entre pontos amostrais da represa.

Ponto Amostral	Amostra	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	P total (mg kg <sup>-1</sup> )
20°01'24,8"S/44°07'6,1"W Próximo à barragem	Interface sedimento-água	1,1	0,15	-
	Água-intersticial	16,0	0,48	-
	Sedimento	-	-	1.445,59
20°01'0,2"S/44°06'32,9"W Próximo ao CEPE*	Interface sedimento-água	<0,044	0,01	-
	Água-intersticial	16,0	0,53	-
	Sedimento	-	-	1.443,87
20°01'34,6"S/44°06'24,5"W Próximo à entrada do Córrego Ibirité	Interface sedimento-água	0,45	0,01	-
	Água-intersticial	8,0	0,41	-
	Sedimento	-	-	1.413,98

CEPE: Clube de Empregados da Petrobras.

FIGURA 5. Dados da composição granulométrica levantados por MOZETO (2008), para comparação entre pontos amostrais da represa.



\*Ponto Amostral: P2 (Próximo à barragem); P3 (Próximo ao CEPE); P4 Próximo à entrada do Córrego Ibirité.

Os sedimentos superficiais (uma amostra de cerca de 40 kg) foram coletados com draga tipo Birge-Ekman de aço-inox com área de 22,5 cm<sup>2</sup>. A água de interface sedimento-água (uma amostra de cerca de 120 L) foi coletada com bomba de imersão alimentada por bateria de carro e conectada a uma mangueira de silicone.

Os sedimentos coletados foram acondicionados em sacos plásticos de 20 L e a água de interface sedimento-água em galões de 10 e 20 L. O material foi mantido sob refrigeração a 4°C durante o transporte do campo ao laboratório, até a montagem dos microcosmos.

## **4.2 Montagem dos microcosmos**

### **4.2.1 Microcosmos-teste**

Para que fosse determinado o desenho experimental definitivo dos ensaios com microcosmos, um pequeno experimento preliminar foi realizado com a montagem de microcosmos-testes. Os microcosmos-teste foram desenvolvidos com o objetivo principal de averiguar se quantidades inferiores a quantidade aplicada por RIPL (1976) seriam suficientes para a retenção de fósforo nas amostras de sedimentos da Represa Ibirité. Em campo, Ripl utilizou uma quantidade de 141 g N m<sup>-2</sup> e FOY (1986), em experimentos utilizando *cores*, testou quantidades de 6,1; 15,4; 30,8 e 60 g N m<sup>-2</sup>.

Desta forma, 9 microcosmos-teste foram montados com sedimento e água de interface coletados na represa, em abril de 2008. As quantidades de nitrogênio aplicadas nos sedimentos dos microcosmos-teste foram de 15 g N m<sup>-2</sup> e 45 g N m<sup>-2</sup>.

Os microcosmos-teste foram montados em potes de vidro cilíndricos (30 cm de altura e 16 cm de diâmetro). Os sedimentos foram colocados até os primeiros 6 cm do pote, totalizando cerca de 1 kg de sedimento, por microcosmo. Em seguida à colocação do sedimento, 1,5 L de água de interface sedimento-água foi acondicionada no frasco.

Após decantação dos sedimentos, revolvidos com a montagem dos microcosmos, e estabelecimento de equilíbrio sedimento-água, 20 mL de solução de nitrato de cálcio [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O] foram aplicados nos dois primeiros centímetros de profundidade do sedimento. Nesta etapa, três microcosmos-teste receberam solução de nitrato de cálcio na quantidade de 15 g N m<sup>-2</sup>; três na quantidade de 45 g

$\text{N m}^{-2}$  e três não receberam a aplicação, sendo, estes últimos, designados microcosmos-controle.

Três períodos foram determinados para a abertura dos microcosmos-teste: 15; 30 e 55 dias. Em cada período, foram abertos um microcosmo-controle (sem adição do nitrato), um microcosmo com adição de nitrato na concentração de  $15 \text{ g N m}^{-2}$  e um microcosmo com adição de nitrato na concentração de  $45 \text{ g N m}^{-2}$ .

A partir do experimento com os microcosmos-teste, algumas modificações no método de montagem foram realizadas para a elaboração dos microcosmos definitivos. Além disso, os resultados obtidos mostraram que as quantidades de 15 e  $45 \text{ g N m}^{-2}$  não foram eficientes na retenção de fósforo nos sedimentos, como pode ser observado na FIGURA 6.

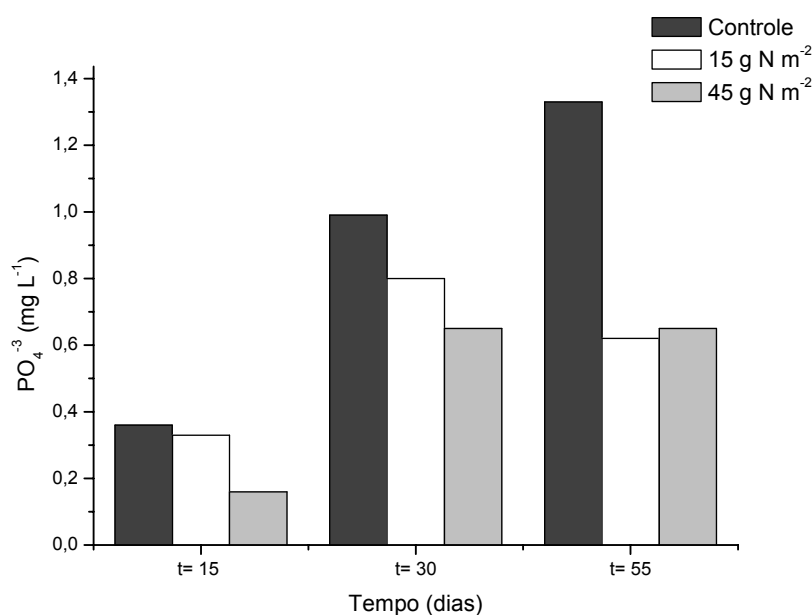


FIGURA 6. Concentração de  $\text{PO}_4^{-3}$  nas amostras de água de interface sedimento-água nos microcosmos-teste, em cada período de abertura.

A FIGURA 6 mostra, portanto, que as amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-teste, com aplicação de nitrato, apresentaram uma concentração de ortofosfato menor do que nas amostras dos microcosmos-controle. No entanto, a manutenção das baixas concentrações de ortofosfato nas amostras analisados não foram mantidas ao longo do tempo.

Este resultado, principalmente, mostrou que a quantidade de nitrato utilizada nos testes preliminares estava subestimada. Assim, com base nos microcosmos-teste



e em trabalhos em campo desenvolvidos por RIPL (1976) e FEIBICKE (1997), adotou-se a quantidade de  $140 \text{ g N m}^{-2}$  para elaboração dos microcosmos definitivos, como detalhado no item 4.2.2 que segue, nesta dissertação.

#### **4.2.2 Microcosmos definitivos**

Em outubro de 2008, amostras de água de interface sedimento-água e sedimentos foram coletados na Represa Ibirité para a montagem de 28 microcosmos. Os microcosmos definitivos foram montados em recipientes cilíndricos de vidro com 30 cm de altura e 16 cm de diâmetro.

A amostra de sedimentos foi homogeneizada e uma fração foi colocada até os primeiros 6 cm de altura de cada um dos 28 recipientes de vidro, o que totalizou cerca de 1kg de sedimento por microcosmo (FIGURA 7a). Em seguida, os sedimentos de 21 microcosmos receberam aplicação de 20 mL de solução de nitrato de cálcio, da marca *Synth*, na concentração  $140 \text{ g N m}^{-2}$ , selecionada com base em RIPL (1976), FOY (1986) e nos experimentos com microcosmos-testes (item 4.2.1). A aplicação da solução foi feita com uma seringa ligada a uma pipeta de Pasteur através de uma mangueira de silicone (FIGURA 7b).

Após a homogeneização dos sedimentos com a solução de nitrato, 4L de água de interface sedimento-água foram acrescentados aos 28 microcosmos (FIGURA 7c). Todo o procedimento foi feito sob atmosfera de nitrogênio gasoso para minimizar a oxidação do sistema (sedimento e água), mantendo as condições iniciais do mesmo. Os microcosmos foram fechados com tampa rosca plástica e cobertos com folhas de papel alumínio para evitar a entrada de luz (FIGURA 8). Todos os microcosmos foram mantidos em sala climatizada, com temperatura ambiente controlada em aproximadamente  $20 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .

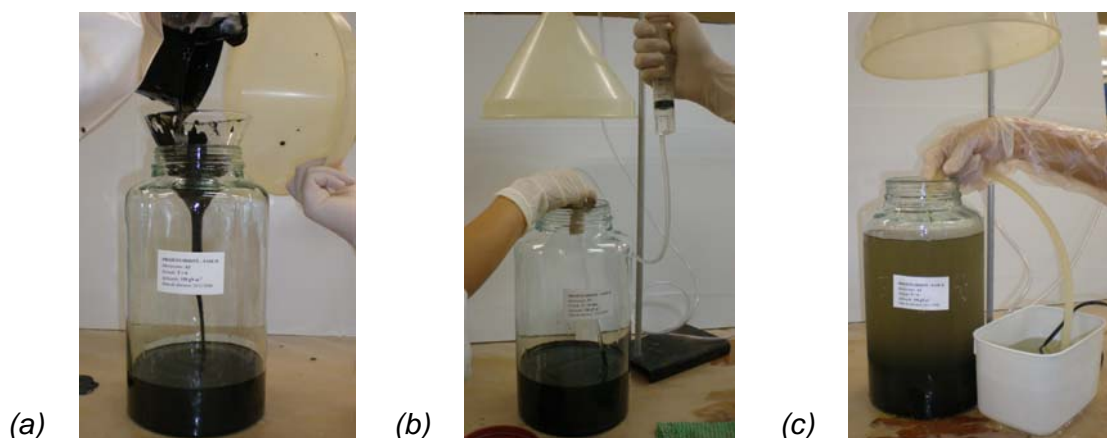


FIGURA 7. Montagem dos microcosmos: (a) introdução do sedimento, (b) aplicação da solução de nitrato no sedimento e (c) introdução da água de interface sedimento-água.

Sete períodos, que representaram o tempo de tratamento do experimento, foram estabelecidos para abertura dos microcosmos:  $t=0$ , após a estabilização (sedimentação) do sistema, portanto no mesmo dia de montagem;  $t=5$ ;  $t=10$ ;  $t=25$ ;  $t=50$ ;  $t=85$  e  $t=135$  dias após a montagem. Desta forma, para cada tempo de tratamento, foi estabelecida a abertura de um *microcosmo-controle* (sem adição do nitrato) e três *microcosmos-tratamento* (com adição de nitrato) montados e mantidos nas mesmas condições experimentais. Os microcosmos montados são mostrados na FIGURA 8.

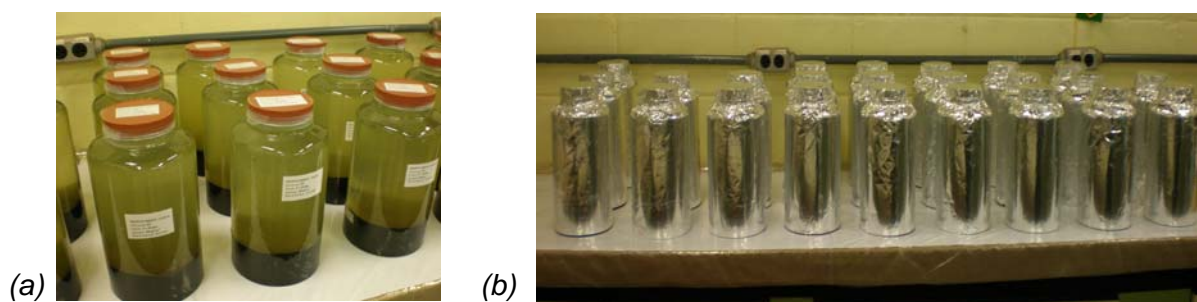


FIGURA 8. Microcosmos: (a) microcosmos prontos tampados com rosca plástica e (b) microcosmos montados cobertos com papel alumínio para evitar o contato com a luz.

### 4.3 Testes de toxicidade aguda

A avaliação da toxicidade foi realizada através de testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia silvestrii*, Sistema Microtox<sup>®</sup> e *Chironomus xanthus*. Os testes foram feitos antes da montagem (amostra inicial) e após a desmontagem dos microcosmos, sendo escolhidos tempos de tratamento específicos para realização de testes com sedimentos, água intersticial dos sedimentos e da interface sedimento-água. O QUADRO 3 apresenta um resumo dos testes de toxicidade aplicados neste trabalho. Os subitens 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3 que vêm a seguir, trazem os métodos utilizados em cada teste.

Os testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia silvestrii* e *Chironomus xanthus* foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), da Universidade de São Paulo (USP), campus São Carlos, que mantêm o cultivo destes organismos. Os testes com o Sistema Microtox<sup>®</sup> foram realizados no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental, Departamento de Química (LBGqA-DQ), da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

QUADRO 3. Resumo dos testes utilizados para avaliação da toxicidade.

	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	<i>Vibrio fischeri</i> (Sistema Microtox <sup>®</sup> )	<i>Chironomus xanthus</i>
<b>Teste</b>	Toxicidade aguda	Toxicidade aguda	Toxicidade aguda
<b>Referência</b>	ABNT (2004)/ NBR 12713	CETESB (2001)/ L5.227	FONSECA (1997)
<b>Matriz testada</b>	✓ Água de interface sedimento-água; ✓ Água intersticial.	✓ Água de interface sedimento-água; ✓ Água intersticial.	✓ Sedimento
<b>Amostra testada</b>	✓ Inicial ✓ Microcomo-controle ✓ Microcosmo-tratamento	✓ Inicial ✓ Microcomo-controle ✓ Microcosmo-tratamento	✓ Inicial ✓ Microcomo-controle ✓ Microcosmo-tratamento
<b>Tempo de tratamento testado</b>	t= 0 t= 5 t= 10 t= 50 t= 85 t=135	t= 0 t= 5 t= 10 t= 50 t= 135	t= 0 t= 10 t= 50 t= 135

#### **4.3.1 *Ceriodaphnia silvestrii***

A toxicidade aguda das amostras de águas intersticiais dos sedimentos e águas de interface sedimento-água foi avaliada para o Cladocera *C. silvestrii* através de testes conforme ABNT (2004). Neste teste, organismos jovens (neonatos) foram expostos às amostras integrais ou com diluições quando necessário, ou seja, quando a amostra integral causou mortalidade igual ou superior a 50 % dos organismos-teste. Os testes foram realizados com exposição de 48 horas, em 4 réplicas contendo 10 mL de cada solução-teste e cinco organismos por réplica.

A toxicidade das amostras à *C. silvestrii* foi expressa em valores de CL50 estimados através do método estatístico Trimmed-Spearman Karber, com intervalo de confiança de 95 % (HAMILTON *et al.*, 1977). O volume disponível de algumas amostras não foi suficiente para a realização de todos os testes necessários para estimar o CL50. Neste caso, os resultados foram expressos como a menor concentração testada da amostra. Os testes agudos com *C. silvestrii* foram realizados com as amostras inicial e dos microcosmos dos tempos de tratamento t=0, t=5, t=10; t=50 e t=85 e t=135 dias.

#### **4.3.2 *Vibrio fischeri* / Sistema Microtox®**

A toxicidade aguda das águas intersticiais dos sedimentos e águas de interface sedimento-água também foi avaliada através do Sistema Microtox®, segundo CETESB (2001). Os testes foram realizados no equipamento Microtox 500 Analyser utilizando culturas liofilizadas da bactéria luminescente *Vibrio fischeri* (linhagem NRRL-B-11177). Os testes agudos com *V.fischeri* foram realizados com as amostras inicial e dos microcosmos dos tempos de tratamento t= 0, t=5, t= 10, t= 50 e t= 135 dias.

De forma geral, o procedimento do testes com Sistema Microtox® ocorre em três etapas: preparação da amostra; reconstituição do agente biológico; diluição da amostra; execução do teste. Cada uma das etapas sumarizada abaixo e representada na FIGURA 9 é descritas com detalhes em CETESB (2001):

- Preparação da amostra: a amostra a ser testada deve ter salinidade mínima de 20 g L<sup>-1</sup> NaCl. Desta forma, amostras de água doce são ajustadas através de volume adequado de solução de ajuste osmótico (solução de NaCl a 22%).
- Reconstituição do reagente biológico: a cultura liofilizada de bactérias é fornecida em ampolas contendo 10<sup>8</sup> células. No momento do teste, as bactérias são hidratadas com reagente de reconstituição (água ultra-pura), a 3°C. Após repouso de 5 minutos, a suspensão-mãe de bactérias é adicionada a uma solução diluente (solução de NaCl a 2%) e é realizada a leitura inicial ( $I_0$ ) da luminescência. O procedimento é realizado em cubetas apropriadas para o teste.
- Diluição da amostra: após ajuste osmótico a amostra é tratada com adição de volumes de solução diluente que resultem em uma diluição de fator igual a 2. O procedimento é realizado em cubetas apropriadas para o teste.
- Execução do teste: após a leitura  $I_0$  as bactérias entram em contato com a série de diluições da amostra e a leitura da luminescência é realizada após o tempo de contado desejado (5, 15 ou 30 minutos).

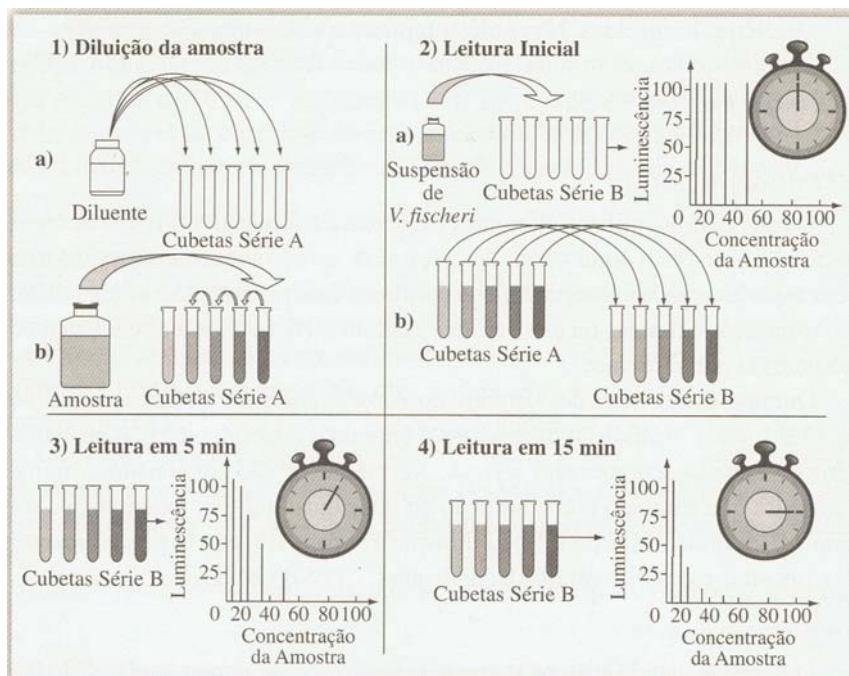


FIGURA 9. Representação do procedimento geral do teste de toxicidade aguda com a bactéria luminescente *V. fischeri* (RODRIGUES, 2006).

A CE50 para *V. fischeri* é calculada através da reta de regressão linear obtida entre os logaritmos das concentrações testadas versus os logaritmos dos valores de gama obtidos. O valor de gama é definido como sendo a razão entre o decréscimo na quantidade de luz produzida e a quantidade de luz remanescente, ou seja, gama = luz perdida/ luz remanescente (RODRIGUES, 2006). Neste trabalho, os valores de CE50;15' para os testes realizados com Microtox<sup>®</sup> foram calculados pelo software MicrotoxOmin (versão 1.18).

#### **4.3.2.1 Toxicidade aguda do nitrato de cálcio para *Vibrio fischeri* / Sistema Microtox<sup>®</sup>**

Devido à falta de disponibilidade de dados na literatura sobre a sensibilidade de *V. fischeri* ao nitrato, e visando uma melhor interpretação dos resultados obtidos com os testes de toxicidade para as amostras dos microcosmos, testes de toxicidade aguda da bactéria *V. fischeri* ao nitrato de cálcio foram realizados através do Sistema Microtox<sup>®</sup>.

Os testes foram realizados sob as mesmas condições citadas acima no item 4.3.2, segundo CETESB (2001). A concentração inicial aleatória da solução testada foi de 142 g L<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio tetrahidratado P.A. [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O], ou 16,837g L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>3</sub>. O reagente utilizado na solução para os testes de sensibilidade foi o mesmo utilizado para aplicação de solução de nitrato em microcosmos.

#### **4.3.3 *Chironomus xanthus***

A toxicidade aguda dos sedimentos foi avaliada através de testes com a espécie *C. xanthus*, segundo metodologia descrita por FONSECA (1997). Neste teste, as amostras de sedimentos foram separadas em tréplica contendo 60 g de sedimento e 240 mL de água de cultivo, ou seja, na proporção de 1 parte de sedimento para 4 partes de água. Em cada réplica foram adicionados 6 organismos dos 3<sup>o</sup> ou 4<sup>o</sup> instar. Os organismos foram expostos às amostras de sedimento por um período de tempo de 96 horas, sem aeração, sem renovação de água e com alimentação somente no primeiro dia. O teste foi conduzido em fotoperíodo de 12 horas em ambiente com temperatura de 22 a 25°C. Ao final da exposição, a resposta

dos organismos (mortalidade) foi comparada com o teste realizado com sedimento controle de laboratório.

Os testes agudos com *C. xanthus* foram realizados com as amostras inicial e dos microcosmos dos períodos t=0, t=10, t=50 e t=135 dias. A confirmação da toxicidade das amostras testadas com *C. xanthus* foi feita pela Prova Exata de Fisher (*Fisher's Exact Test*), utilizando o software BioEstat, versão 5.0.

#### 4.3.4 Avaliação da qualidade dos organismos-teste

A avaliação da qualidade das culturas de *C. silvestrii*, *C. xanthus* e *V. fischeri* foi realizada através de testes de sensibilidade com diferentes concentrações de substâncias referência. No caso de *C. silvestrii* e *C. xanthus* os testes de sensibilidade foram realizados no CRHEA (USP).

Os testes de sensibilidade para *C. silvestrii* foram feitos com cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações 1,0; 1,3; 1,6; 2,2; 2,5 g L<sup>-1</sup>. Para realização destes testes cinco organismos foram expostos a cada réplica (4 réplicas) com 10 mL de solução de NaCl nas diferentes concentrações por 48h (ABNT, 2004).

Para *C. xanthus*, a substância referência utilizada foi o cloreto de potássio (KCl) nas concentrações de 1,5; 2,25; 3,5; 5,0 e 7,5 g L<sup>-1</sup>. Estes testes são feitos com areia de cultivo e solução de KCl na proporção de uma parte de substrato para quatro partes de solução teste, além de um controle sem adição de KCl, ou seja, apenas com areia e água de cultivo. Três réplicas de cada concentração de solução de KCl e controle recebem 6 organismos-teste, expostos as condições do teste por 96h.

Os resultados dos testes para *C. silvestrii* e *C. xanthus* foram expressos em porcentagem de mortalidade e a faixa de sensibilidade dos organismos testados foi calculada pelo método estatístico Trimmed-Spearman Karber, com intervalo de confiança de 95 % (HAMILTON *et al.*, 1977).

Os testes de sensibilidade com *V. fischeri* foram realizado com sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O) como substância referência (CETESB, 2001). Os testes foram realizados partindo de uma solução estoque de 20 mg ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup> e fator 2 de diluição. Os valores de sensibilidade para os testes realizados com Microtox<sup>®</sup> foram calculados pelo *softwater MicrotoxOmin* (versão 1.18).

Os resultados obtidos para os testes de sensibilidade atestaram a viabilidade dos organismos-teste, ou seja, a faixa de sensibilidade esteve dentro do esperado para as culturas destes organismos. Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade foram comparados com a carta controle obtida pelo Laboratório de Ecotoxicologia do CRHEA (USP) para *C. silvestrii* (0,91 – 1,71 g L<sup>-1</sup> de NaCl) e *C. xanthus* (3,15 – 6,36 g L<sup>-1</sup> de KCl). No caso do organismo *V. fischeri* os valores dos testes de sensibilidade foram comparados com o valor referência fornecido por CETESB (2001) que é de 3,0 – 10,0 mg L<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O. Os valores de CE50 para cada teste realizado estão apresentados nas TABELAS 10, 11 e 12 do ANEXO 1.

#### **4.4 Análises químicas**

As análises químicas de interesse para este trabalho foram realizadas nas amostras de interface sedimento-água, água intersticial dos sedimentos e sedimentos antes da montagem (amostra inicial) e, após desmontagem dos microcosmos, em cada tempo de tratamento. As análises realizadas são descritas a seguir:

##### **4.4.1 Variáveis físicas e químicas**

As variáveis físicas e químicas, pH e E<sub>H</sub> (potencial redox) foram medidas nas amostras iniciais e nas amostras dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. As medidas de pH e E<sub>H</sub> das águas e E<sub>H</sub> dos sedimentos foram medidos com o pHmetro portátil Digimed, modelo DM-2P.

##### **4.4.2 Determinação de nutrientes dissolvidos em água**

A determinação de nutrientes dissolvidos foi realizada nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos após filtração das amostras em membranas de acetato de celulose de 0,45µm. As determinações foram feitas através de um espectrofotômetro portátil da marca Hach modelo DR-2010, por metodologias descritas em APHA (1992). Os limites de detecção de cada um dos



métodos descritos estão na TABELA 13 do ANEXO 2. Os nutrientes determinados foram:

- Amônio

A determinação de íons amônio foi realizada através do Método Hach 8038. Neste método, os íons amônio se combinam com o reagente Nessler. O agente dispersante álcool polivinílico contribui para a formação da cor amarelada na reação do amônio com o Nessler. A cor amarelada é formada proporcionalmente à concentração de amônio ( $\lambda = 425\text{nm}$ ).

- Nitrito

A determinação de nitrito foi realizada através do Método Hach 8507. Neste método, o nitrito presente na amostra reage com o ácido sulfanílico e forma um sal intermediário de diazoto. Este, por sua vez, reage com o ácido cromotrófico para produzir um complexo rosa, cuja intensidade é proporcional à quantidade de nitrito presente na amostra ( $\lambda = 507\text{ nm}$ ).

- Nitrato

A determinação de nitrato foi realizada através do Método Hach 8192. Neste procedimento, o cádmio metálico reduz o nitrato presente na amostra a nitrito, que é determinado. Este, por sua vez, reage com o ácido cromotrófico para produzir um complexo rosa, cuja intensidade é proporcional à quantidade de nitrato presente na amostra ( $\lambda = 507\text{ nm}$ ).

- Sulfato

A determinação de sulfato foi realizada através do Método Hach 8051. Neste método, os íons sulfato presentes na amostra reagem com o bário e formam o sulfato de bário que é insolúvel, e que conseqüentemente, causa turbidez na solução. O grau de turbidez é proporcional à concentração de sulfato presente na amostra ( $\lambda = 450\text{ nm}$ ).

- Ortofosfato

A determinação de ortofosfato foi realizada através do Método Hach 8178. Neste procedimento o ortofosfato presente na amostra reage com o molibdato em meio ácido, para formar um complexo de fosfomolibdato. O complexo é reduzido pelo ácido ascórbico formando um composto de molibdênio de coloração azul ( $\lambda = 530\text{ nm}$ ).

#### **4.4.3 Determinação de metais dissolvidos em água**

A determinação de metais dissolvidos foi realizada nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento, após filtração das amostras em membranas de acetato de celulose de 0,45µm. Os metais determinados foram Al, Fe, Mn e Zn, por espectrometria de emissão por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), e Cu, Ni e Pb por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS).

As determinações analíticas das concentrações desses elementos foram realizadas no Laboratório de Poços de Caldas (LAPOC), da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), através de trabalho de cooperação com o Dr. Marcos do Nascimento. Os limites de quantificação de cada um dos métodos estão descritos na TABELA 14 do ANEXO 2.

#### **4.4.4 Determinação de metais em sedimento**

Nos sedimentos foram realizadas as determinações da fração potencialmente biodisponível dos metais Al, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn, segundo método de extração 3050B da USEPA. Seguindo esta extração, foi realizada uma digestão ácida forte de cerca de 2g de amostra de sedimento seco, segundo NASCIMENTO (2003). Esta digestão ácida é realizada em chapa aquecedora utilizando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio (USEPA, 1996).

As determinações analíticas das concentrações desses elementos foram realizadas por ICP-OES no LAPOC/CNEN, através de trabalho de cooperação com o Dr. Marcos do Nascimento. Os limites de quantificação de cada um dos metais estão descritos na TABELA 15 do ANEXO 2.

#### **4.4.5 SVA e MES nos sedimentos**

As determinações das concentrações de sulfetos volatilizáveis por acidificação (SVA) e os metais extraídos simultaneamente (MES) das amostras de sedimentos foram realizadas segundo metodologia descrita por ALLEN *et al.* (1993). Nesta extração, 100 mL de água deionizada foram adicionados a 2 g aproximadamente (precisão de ±0,0001g) de sedimento úmido; a suspensão

formada foi agitada por 10 minutos sob fluxo de nitrogênio gasoso. Em seguida, foram adicionados 20 mL de HCl 6 mol L<sup>-1</sup>, previamente desaerado com N<sub>2</sub> (g). Os sulfetos dos diversos metais presentes na amostra são dissolvidos e o SVA (H<sub>2</sub>S) formado é arrastado pelo fluxo de nitrogênio gasoso através de tubulação de vidro cuja extremidade se encontram mergulhada nos frascos receptores contendo 80 mL de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>. A solução fortemente alcalina fixa o sulfeto formado dissolvido (Na<sub>2</sub>S). A suspensão resultante deste processo é filtrada para determinação da concentração de metais (fração de metais extraídos simultaneamente ao SVA).

As quantificações do SVA foram realizadas pelo espectrofotômetro portátil Hach, modelo DR 2010, através do método Método Hach 8131 (APHA, 1992). Neste procedimento o sulfeto de sódio presente na amostra reage com o oxalato de N-dimetil-p-fenilenodiamino para formar o azul de metileno. A intensidade da coloração azul é proporcional à concentração de sulfeto ( $\lambda = 690$  nm). O limite de detecção do método está apresentado na TABELA 16 do ANEXO 2.

As determinações analíticas das concentrações dos MES (Cd, Cu, Pb, Ni e Zn) (USEPA, 2000) foram realizadas por ICP-OES no LAPOC/CNEN, através de trabalho de cooperação com o Dr. Marcos do Nascimento. Os limites de quantificação de cada um dos metais estão descritos na TABELA 15 do ANEXO 2.

#### **4.4.6 Análise dos dados**

Os resultados obtidos para as análises químicas das réplicas dos microcosmos-tratamento foram comparadas a partir das médias com os microcosmos-controle de cada período. Os resultados foram interpretados a partir da tendência observada ao longo dos períodos de abertura.

A diferença entre os dados de metais das águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento foi avaliada através de análise de agrupamento Análise de *Cluster* Aglomerativa Hierárquica (ACH), tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana. As análises foram feitas com auxílio do *software* XLSTAT (versão 2006.6).

#### **4.5 Descarte dos resíduos**

Os resíduos gerados nos procedimentos experimentais acima descritos foram transferidos para frascos de vidro âmbar, devidamente identificados, e enviados para a Unidade de Gestão de Resíduos (UGR), Coordenadoria Especial para o Meio Ambiente da UFSCar, para posterior tratamento.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Testes de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade que acompanharam a avaliação dos sedimentos da Represa Ibirité mostraram que até 85 dias após a aplicação de nitrato, os sedimentos em tratamento são deletérios aos organismos-teste. Estes resultados foram evidentes tanto com os testes em água intersticiais quanto para os testes realizados com amostras de sedimento integral.

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com *C. silvestrii* não mostraram toxicidade das amostras iniciais, tanto para água de interface sedimento-água quanto para a água intersticial dos sedimentos. Este resultado foi também obtido para as amostras de água intersticial dos sedimentos e água de interface sedimento-água dos microcosmos-controle, em todos os tempos de tratamento.

O resultado de toxicidade da amostra inicial de água intersticial dos sedimentos, para *C. silvestrii*, é contrário aos dados obtidos por MOZETO *et al.* (2008). Em janeiro de 2008, amostras de água intersticial dos sedimentos coletadas no ponto próximo à barragem da Represa Ibirité foram tóxicas para o organismo *C. silvestrii*.

As amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento não foram tóxicas para a *C. silvestrii* até o tempo de tratamento  $t=5$  dias. A partir do tempo de tratamento  $t=10$  dias, as amostras começaram a apresentar toxicidade com agravamento até o tempo de tratamento  $t=85$  dias. Em  $t=135$  dias a toxicidade dessas amostras diminuiu em relação ao tempo de tratamento anterior. As médias das CE50;48h para *C. silvestrii* das amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento foram: 62,80 % ( $\pm 2,60$ ) em  $t=10$  dias; 20,67 % ( $\pm 1,73$ ) em  $t=50$  dias; 17,18 % ( $\pm 2,92$ ) em  $t=85$  dias; 43,3 % ( $\pm 11,6$ ) em  $t=135$  dias. Os resultados de CE50;48h e os intervalos de confiança 95% obtidos para as amostras de água de interface sedimento-água em cada réplica dos microcosmos-tratamento são apresentados na TABELA 17 do ANEXO 3.

As amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento foram tóxicas desde  $t=0$  dia, com aumento da toxicidade até o tempo de tratamento  $t=85$  dias. No tempo de tratamento  $t=135$  dias houve uma considerável diminuição da toxicidade dessas amostras em relação a todos os períodos anteriores. As

médias das CE50;48h para *C. silvestrii* das amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento foram: <2,5 % em t=0 dia; 5,01 % ( $\pm 0,46$ ) em t= 5 dias; 4,98 ( $\pm 0,52$ ) em t=10 dias; <2,5 % em t=50 dias; 2,06 % ( $\pm 0,96$ ) em t=85 dias; e 66,10 % ( $\pm 5,45$ ) em t=135dias. Os resultados de CE50; 48h e os intervalos de confiança para as amostras de água intersticial dos sedimentos em cada réplica dos microcosmos-tratamento são apresentados na TABELA 18 do ANEXO 3.

Os resultados citados anteriormente estão representados na FIGURA 10. Nesta figura, está representado a tendência da toxicidade das amostras de água de interface sedimento-água e intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento para *C. silvestrii*, ao longo do tempo de tratamento dos sedimentos com nitrato.

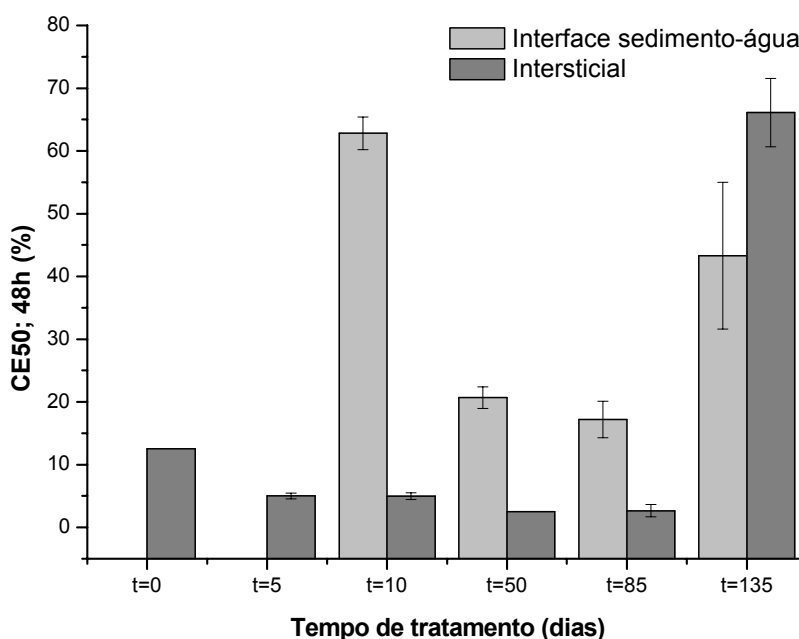


FIGURA 10. CE50;48h (%) para *C. silvestrii* das amostras de água de interface sedimento-água e água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

Os resultados de toxicidade aguda para *V. fischeri*, utilizando o Sistema Microtox<sup>®</sup>, mostraram ausência de toxicidade das amostras iniciais de água de interface sedimento-água e água intersticial dos sedimentos. O mesmo resultado foi observado para todas as amostras dos microcosmos-controle e para as águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento, em todos os períodos de abertura.

As águas intersticiais foram tóxicas para *V. fischeri* logo em t=0 dia. No entanto, ao contrário do que os resultados obtidos com *C. silvestrii* mostraram, não foi observado para a *V. fischeri* uma tendência de aumento ou queda da toxicidade ao longo do tempo, a não ser no último tempo de tratamento, em que houve o abatimento total da toxicidade das amostras. As médias das CE50;15min para as réplicas dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento foram: 64,50 % ( $\pm 4,00$ ) em t=0 dia; 34,25 % ( $\pm 6,65$ ) em t=5 dias; 80,33 ( $\pm 5,03$ ) em t=10 dias; e 56,5 % ( $\pm 5,07$ ) em t=50 dias (FIGURA 11).

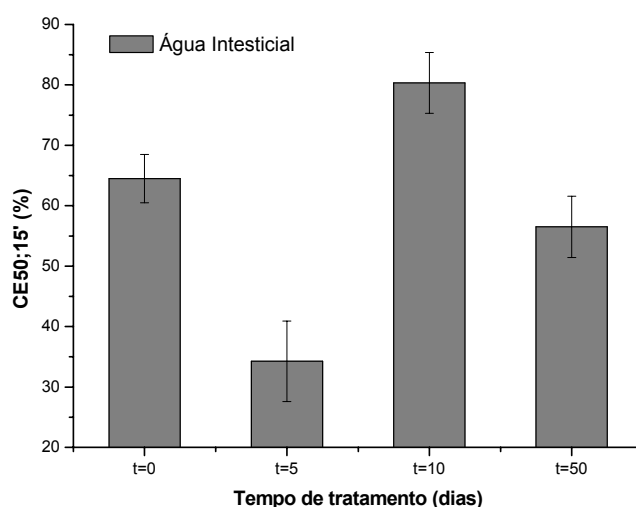


FIGURA 11. CE50;15' (%) para *V.fischeri* das amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento.

Os testes realizados com *C. xanthus*, utilizando o sedimento integral, reforçaram os dados obtidos com água intersticial para *C. silvestrii* e *V. fischeri*. A totalidade dos organismos expostos aos sedimentos tratados foi morta quando testados os períodos t=0, t=10 e t=50 dias, o que evidenciou a toxicidade do tratamento nestes períodos de abertura ( $p=0,00$ ). Em t=135 dias não houve mortalidade significativa dos organismos expostos aos sedimentos dos microcosmos-tratamento ( $p=1,00$ ).

No sedimento inicial observou-se mortalidade de 22 % dos organismos, o que não representa diferença significativa em relação ao controle de laboratório ( $p=0,0519$ ). Para os períodos t=0 dia e t=10 dias, a mortalidade de 16,5 % dos organismos expostos para os dois períodos não indicou toxicidade dos sedimentos dos microcosmos-controle ( $p=0,1143$ ). Para t=50 dias, o sedimento sem tratamento mostrou-se tóxico em relação ao controle de laboratório ( $p=0,0038$ ), tendo

provocado mortalidade de 38,8 % dos organismos teste. Em t=135 dias, os sedimentos do microcosmo-controle não apresentaram toxicidade para os organismos expostos ao teste ( $p=1,00$ ).

O abatimento da toxicidade para *C. xanthus* e *V. fischeri*, no tempo de tratamento t=135 dias, corroboram as expectativas de RIPL (1976) que relata que os sedimentos com a aplicação de nitrato, após restauração, podem suportar macrofauna bentônica. Embora a toxicidade das águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-tratamento não tenha sido abatida para *C. silvestrii*, os resultados mostraram que existe uma tendência à diminuição desta toxicidade do tempo de tratamento t=85 para t=135 dias, o que converge para a mesma interpretação feita com os outros organismos testados.

## 5.2 Toxicidade X Série Nitrogenada ( $\text{NH}_3$ , $\text{N-NO}_2^-$ , $\text{N-NO}_3^-$ )

Os resultados das análises químicas levam a interpretação de que as principais causas da toxicidade das amostras dos microcosmos-tratamento podem ser as altas concentrações dos analitos da série nitrogenada (amônia não ionizada, nitrito e nitrato).

Os resultados da série nitrogenada mostram um aumento inicial das concentrações de amônio nas águas de interface sedimento-água dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. O pico de amônia não ionizada para as águas de interface sedimento-água dos microcosmos-controle ocorre em t= 5 dias ( $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ ) e dos microcosmos-tratamento este pico é em t= 10 dias ( $7,0 \pm 1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Após os respectivos períodos de pico das concentrações, a amônia não ionizada decresce até o valor de  $0,07 \text{ mg L}^{-1}$  no microcosmo-controle e valores próximos a  $2 \text{ mg L}^{-1}$  nos microcosmos-tratamento, em t=135 dias (FIGURA 12a).

Para as águas intersticiais a concentração de amônia não ionizada dos microcosmos-controle não sofre aumento em nenhum tempo de tratamento. Nos microcosmos-tratamento, os valores de concentração são iguais ao dobro dos valores obtidos para os microcosmos-controle em t= 0 e t= 5 dias. Para t= 0 dias a concentração deste analito foi de  $22,00 \text{ mg L}^{-1}$  para microcosmo-controle e  $44,67 \pm 0,58$  para microcosmo-tratamento. Em t= 5 dias, foram determinados  $15,00 \text{ mg L}^{-1}$  para microcosmo-controle e  $30,33 \pm 0,58 \text{ mg L}^{-1}$  microcosmo-tratamento. Para os demais tempos de tratamento, os valores de amônio dos microcosmos-tratamento



continuam superiores as dos microcosmos-controle. Um perfil claro de queda nos valores de amônio nas águas intersticiais é observado tanto nos microcosmos-controle quanto nos microcosmos-tratamento (FIGURA 12b).

Os valores das concentrações de nitrito dos microcosmos-controle não foram alterados nas amostras de água de interface sedimento-água e nem nas amostras de água intersticial dos sedimentos ao longo do tempo, no entanto para alguns tempos de tratamento os valores ficaram abaixo do limite de detecção. O maior valor de nitrito das águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento ocorreu em t=85 dias ( $8,8 \pm 0,52 \text{ mg L}^{-1}$ ) e nas águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-tratamento ocorreu em t=25 dias ( $59,57 \pm 2,58 \text{ mg L}^{-1}$ ). Ao final do experimento, em t=135 dias, os valores de nitrito das águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento chegaram a  $0,06 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$  e nas águas intersticiais dos sedimentos a  $1,15 \pm 0,90 \text{ mg L}^{-1}$ . (FIGURAS 12c e 12d).

Os valores das concentrações de nitrato nas águas de interface sedimento-água e nas águas intersticiais dos microcosmos-controle ficaram abaixo dos limites de detecção do método para diversos tempos de tratamento. As águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento tiveram aumento das concentrações de nitrato até t=25 dias ( $174,483 \pm 40,65 \text{ mg L}^{-1}$ ) e valores próximos em t=50 ( $171,33 \pm 53,22 \text{ mg L}^{-1}$ ) e t=85 dias ( $204,53 \pm 57,47 \text{ mg L}^{-1}$ ). Em t=135 dias a concentração de nitrato foi inferior aos três períodos anteriores ( $129,94 \pm 26,46 \text{ mg L}^{-1}$ ). As amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento apresentaram elevadas concentrações em todos os períodos de abertura, porém com um claro perfil de queda ao longo do tempo. Logo em t=0 dia, no tempo de tratamento referente ao dia de aplicação do nitrato, e em t=5 dias, os valores de nitrato foram os mais elevados:  $1.033,73 \pm 382,96 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1.208,06 \pm 201,236 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Em t=135 dias, este valor caiu para  $88,85 \pm 35,72 \text{ mg L}^{-1}$  (FIGURAS 12e e 12f).

As concentrações da serie nitrogenada nas águas dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento para cada tempo de tratamento são apresentadas nas TABELAS 19, para  $\text{NH}_3$ ; 20, para  $\text{N-NO}_2^-$ ; e 21, para  $\text{N-NO}_3^-$ , do ANEXO 4.

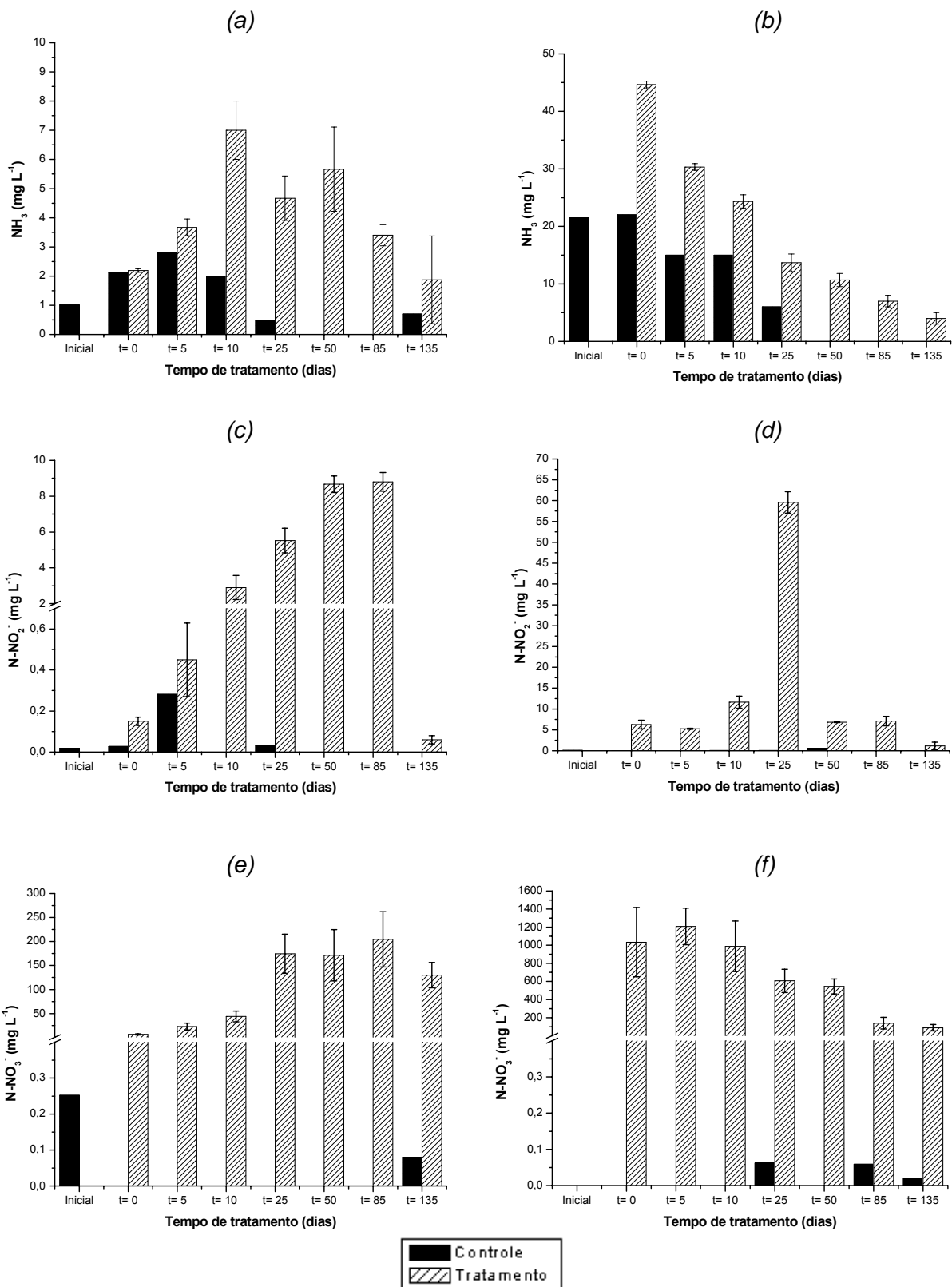


FIGURA 12. Perfil de amônia não ionizada (NH<sub>3</sub>) em (a) interface sedimento-água (b) água intersticial; nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) em (c) interface sedimento-água (d) água intersticial; nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) em (e) interface sedimento-água (f) água intersticial.

As concentrações de nitrato, das amostras de água intersticial dos sedimentos, atingiram valores superiores a CL50;48h de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> encontradas na literatura. Para *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna* estes valores são respectivamente 374 e 462 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup> (SCOTT e CRUNKILTON, 2000). Embora não se tenha dados de CE50 de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> para o organismo *C. silvestrii*, os dados de *C. dubia* e *D. magna* podem ser utilizados como referência para a interpretação dos resultados de toxicidade aguda obtidos.

A diminuição da toxicidade da água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento para *C. silvestrii* em t=135 dias é acompanhada também pela queda da concentração de nitrato destas amostras. Para as águas de interface, os valores da concentração de nitrato estão abaixo dos valores de toxicidade citados anteriormente desde o primeiro dia de abertura até o final dos experimentos. Considerando que a toxicidade da água de interface foi detectada a partir do tempo de tratamento t=10 dias, outros compostos, que não o nitrato, podem ser os responsáveis pela toxicidade destas amostras.

Em relação à amônia, a toxicidade aguda deste analito é causada principalmente pela sua forma não ionizada (NH<sub>3</sub>) enquanto o íon amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) é raramente associado à toxicidade aos organismos aquáticos. As espécies químicas NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NH<sub>3</sub> relacionam-se em um equilíbrio químico dependente do pH e temperatura da água: como aumento dos valores de pH e temperatura a concentração de NH<sub>3</sub> na água aumenta enquanto a de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> diminui (CAMARGO e ALONSO, 2006). A reação química NH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O ↔ NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + OH<sup>-</sup> (dissolução por hidrólise da amônia) tem um equilíbrio em que sua constante (K<sub>b</sub>) é igual a 1,75x10<sup>-5</sup>. Isto equivale a dizer que há quantidades iguais de NH<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> somente quando o pH do meio for igual ao pK<sub>a</sub> do ácido conjugado (*i.e.*, o íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) que é igual a 9,244. Ou seja, sob pH < 9,244, domina NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e sob pH > 9,244, domina a NH<sub>3</sub>. Como os valores de pH das águas variaram de um mínimo de 6,0 a um máximo de 7,4, cálculos de equilíbrio usando a equação de Henderson-Hasselbalch (HARRIS, 1999) mostram que a razão de concentração [NH<sub>3</sub>]/[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] variou, respectivamente, de 5,1 x 10<sup>-4</sup> a 0,54, ou seja, as águas continham entre um mínimo de 0,051 % e 54 % de amônia não ionizada.

Como apresentado na FIGURA 15 as concentrações de amônia não ionizada nas águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento foram crescentes até t=10 dias, com valores superiores a três vezes os valores

encontrados nos microcosmos-controle, tempo de tratamento em que começou a ser observado o efeito agudo para *C. silvestrii* nestas amostras. De fato, as concentrações detectadas para  $\text{NH}_3$  nas águas de interface sedimento-água, em  $t=10$  dias, são superiores aos dados de CE50;48h ( $1,18 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$ ) encontrados por ANDERSEN e BUCKEY (1998) para *C. dubia*. No entanto, para alguns tempos de tratamentos, valores elevados também foram detectados nas águas de interface sedimento-água e intersticial dos sedimentos dos microcosmos-controle, que não apresentaram toxicidade a *C. silvestrii*. Desta forma, para as condições experimentais estabelecidas neste trabalho, a amônia parece não estar contribuindo para a toxicidade, pelo menos até valores inferiores a  $22 \text{ mg L}^{-1}$ , o maior valor encontrado em águas intersticiais não tóxicas a *C. silvestrii*.

As TABELAS 1 e 2 confirmam o exposto acima, comparando o perfil das concentrações dos analitos da série nitrogenada para as águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos microcosmos-tratamento, respectivamente, e a tendência da toxicidade dessas amostras para *C. silvestrii*, em cada tempo de tratamento.

TABELA 1. Concentração média dos analitos  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N-NO}_2^-$  e CE50; 48h (*C. silvestrii*) para as amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento

Tempo de tratamento (dias)	$\text{N-NO}_3^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$\text{NH}_3$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$\text{N-NO}_2^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	CE50 (%) <i>C. silvestrii</i>
t=0	6,68 ( $\pm 1,26$ )	2,19( $\pm 0,06$ )	0,15( $\pm 0,02$ )	SE <sup>†</sup>
t=5	22,88( $\pm 7,22$ )	3,66( $\pm 0,28$ )	0,45( $\pm 0,18$ )	SE
t=10	43,93( $\pm 11,23$ )	7,00( $\pm 1,00$ )	2,90( $\pm 0,67$ )	62,81( $\pm 2,61$ )
t=50	171,33( $\pm 53,21$ )	5,66( $\pm 1,44$ )	8,67( $\pm 0,46$ )	20,68 ( $\pm 1,73$ )
t=85	204,53( $\pm 57,47$ )	3,40 ( $\pm 0,36$ )	8,8( $\pm 0,520$ )	17,19 ( $\pm 2,93$ )
t=135	129,94( $\pm 26,46$ )	1,87 ( $\pm 1,50$ )	0,06( $\pm 0,02$ )	20,68 ( $\pm 1,73$ )
CE50 referência	374*	1,18**		

<sup>†</sup>SE: Sem Efeito

\*SCOTT e CRUNKILTON (2000)

\*\*ANDERSEN e BUCKEY (1998)

TABELA 2. Concentração média dos analitos N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>3</sub>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e CE50; 48h (*C. silvestrii*) para amostras de água intersticial dos microcosmos-tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	CE50 (%) <i>C. silvestrii</i>
t=0	1.033,73 (±382,96)	44,66 (±0,57)	6,27(±1,04)	12,5
t=5	1.208,06 (±201,23)	30,33 (±0,57)	5,27(±0,12)	5,01 (±0,46)
t=10	988,36 (±278,57)	24,33 (±1,15)	11,63(±1,44)	4,98 (±0,53)
t=50	545,80 (±82,09)	10,66 (±1,15)	6,83(±0,12)	2,5
t=85	139,57 (±63,75)	7,00 (±1,00)	7,10(±1,14)	2,66 (±0,97)
t=135	88,85 (±35,72)	4,00 (±1,00)	1,15(±0,90)	66,11 (±5,45)
CE50 referência	374*	1,18**		

\*SCOTT e CRUNKILTON (2000)

\*\*ANDERSEN e BUCKEY (1998)

Os resultados obtidos através dos testes de toxicidade aguda com *V. fischeri* não mostraram relação entre o tempo de experimento e a toxicidade das amostras de água intersticial dos sedimentos dos microcosmos-tratamento. A associação das concentrações de amônia não ionizada, nitrito e nitrato à toxicidade encontrada não é direta. A bactéria *V. fischeri* é bem menos sensível ao nitrogênio amoniacal e ao nitrato do que os demais organismos testados. QURESHI *et al.* (1982), *apud* UMBUZEIRO e RODRIGUES (2004), encontraram CE50 de 3.600 mg L<sup>-1</sup> para nitrogênio amoniacal. O valor de CE50 para nitrato encontrado no atual trabalho também mostrou a pequena sensibilidade da bactéria a este composto. A faixa de CE50;15' da bactéria *V. fischeri* está entre 4.467 – 6.240 mg N-NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (TABELA 3 e TABELA 4).

TABELA 3. CE50 obtida nos testes com solução de nitrato de cálcio para *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox®).

Teste	CE50	%	Intervalo de Confiança	g L <sup>-1</sup> de Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	g L <sup>-1</sup> de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg L <sup>-1</sup> de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
1	5'	40	17 - 92	56,80	6,73	6734,80
	15'	39	31 - 49	55,38	6,57	6566,43
	30'	38	35 - 41	53,96	6,40	6398,06
2	5'	38	16 - 92	53,96	6,40	6398,06
	15'	35	18 - 70	49,70	5,89	5892,95
	30'	38	35 - 40	53,96	6,40	6398,06
3	5'	26	14 - 48	36,92	4,38	4377,62
	15'	25	14 - 43	35,50	4,21	4209,25
	30'	24	13 - 43	34,08	4,04	4040,88
4	5'	29	21 - 41	41,18	4,88	4882,73
	15'	28	21 - 38	39,76	4,71	4714,36
	30'	26	4 - 141	36,92	4,38	4377,62
5	5'	30	15 - 59	42,60	5,05	5051,10
	15'	26	16 - 41	36,92	4,38	4377,62
	30'	24	14 - 40	34,08	4,04	4040,88
6	5'	32	16 - 64	45,44	5,39	5387,84
	15'	29	17 - 48	41,18	4,88	4882,73
	30'	29	16 - 50	41,18	4,88	4882,73
7	5'	35	13 - 89	49,70	5,89	5892,95
	15'	35	15 - 85	49,70	5,89	5892,95
	30'	32	14 - 75	45,44	5,39	5387,84
8	5'	36	9 - 140	51,12	6,06	6061,32
	15'	32	19 - 102	45,44	5,39	5387,84
	30'	29	10 - 84	41,18	4,88	4882,73
9	5'	33	23 - 48	46,86	5,56	5556,21
	15'	29	5 - 156	41,18	4,88	4882,73
	30'	28	7 - 109	39,76	4,71	4714,36
10	5'	41	15 - 112	58,22	6,90	6903,17
	15'	40	12 - 135	56,80	6,73	6734,80
	30'	35	11 - 107	49,70	5,89	5892,95

TABELA 4. Médias das CE50 (g L<sup>-1</sup>) obtida nos testes com solução de nitrato de cálcio para *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox®).

	CE50		
	5'	15'	30'
Média g L <sup>-1</sup> de Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	48,280	45,156	43,026
Desvio Padrão	6,957	7,478	7,486
Coefficiente de Variação	0,144	0,166	0,174
Média g L <sup>-1</sup> de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5,725	5,354	5,102
Desvio Padrão	0,825	0,887	0,888
Coefficiente de Variação	0,144	0,166	0,174
Média mg L <sup>-1</sup> de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5724,580	5354,166	5101,611
Desvio Padrão	824,841	886,678	887,565
Coefficiente de Variação	0,144	0,166	0,174

Os testes realizados com *C. xanthus* reforçaram os resultados gerados com os testes com *C. silvestrii*. Os testes com *C. xanthus* são mais representativos para a avaliação da toxicidade da matriz sedimento visto que estes organismos ficam expostos diretamente (pela superfície do corpo) ou indiretamente (pela ingestão de alimento) a compostos tóxicos presentes nesta matriz (POWER e CHAPMAN, 1992). Desta forma, os testes com *C. xanthus* deixaram claro o efeito deletério dos sedimentos dos microcosmos-tratamento. Devido à mortalidade de 100 % dos organismos-teste em contato com sedimento dos microcosmos-tratamento, sem diminuição desta porcentagem ao longo do tempo de tratamento testado, é difícil uma avaliação de possíveis causas desta toxicidade. No entanto, embora não seja encontrado na literatura nenhum trabalho que relacione a série nitrogenada com a toxicidade das águas intersticiais de sedimentos para *C. xanthus*, pode-se dizer que a queda da toxicidade dos sedimentos dos microcosmos-tratamento em t=135 dias, com 0 % de mortalidade, pode estar relacionada com a diminuição das concentrações de nitrato, nitrito e amônio nas águas intersticiais destes sedimentos.

De qualquer forma, as concentrações obtidas de N-NH<sub>3</sub>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, nas águas intersticiais e de interface sedimento-água dos microcosmos tratamento, estão acima de valores considerados limites em critérios de qualidade de água, elaborados com base em dados de toxicidade para organismos aquáticos. Com base em dados de toxicidade aguda considera-se aceitável valores de N-NH<sub>3</sub> entre 0,05-0,35 mg L<sup>-1</sup> em águas continentais (USEPA, 1999). Para valores de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ALONSO (2005) *apud* CAMARGO e ALONSO (2006) recomendam que valores entre 0,08-0,35 mg L<sup>-1</sup> são adequados para proteção de animais aquáticos. Em relação aos valores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CAMARGO *et al.* (2005) propuseram nível máximo de 2 mg L<sup>-1</sup>.

### **5.3 Toxicidade X Sulfatos**

A discussão anterior a respeito da toxicidade das formas inorgânicas nitrogenadas e os resultados químicos e ecotoxicológicos obtidos neste trabalho, revelam que possivelmente outras frações, que não o nitrogênio inorgânico, podem ter provocado o aumento da toxicidade das águas intersticiais dos sedimentos e das águas de interface sedimento-água ao longo do tempo de tratamento dos microcosmos-tratamento. Dentre todos os possíveis fatores geradores de toxicidade,

as crescentes e elevadas concentrações de sulfato nas amostras de água chamaram atenção como suspeitas da causa da toxicidade.

As concentrações de sulfato nas águas de interface sedimento-água aumentaram nas amostras dos microcosmos-controle ao longo do tempo de tratamento: 65,54 mg L<sup>-1</sup>, em t=0 dias, e 126,34 mg L<sup>-1</sup>, em t=135 dias). Esse perfil também foi observado, de forma muito mais acentuada nos microcosmos-tratamento: 67,22 ± 1,03 mg L<sup>-1</sup>, em t=0 dias, e 791,40 ± 31,58 mg L<sup>-1</sup>, em t=135 dias (FIGURA 13a).

Para as águas intersticiais dos sedimentos, as concentrações de sulfato foram crescentes apenas nos microcosmos-tratamento com 125,78 ± 30,22 mg L<sup>-1</sup>, em t=0 dia e 1539,31 ± 288,25 mg L<sup>-1</sup>, em t=135 dias (FIGURA 13b).

Os valores das concentrações de sulfato nas águas dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento para cada tempo de tratamento são apresentadas na TABELA 22 do ANEXO 4.

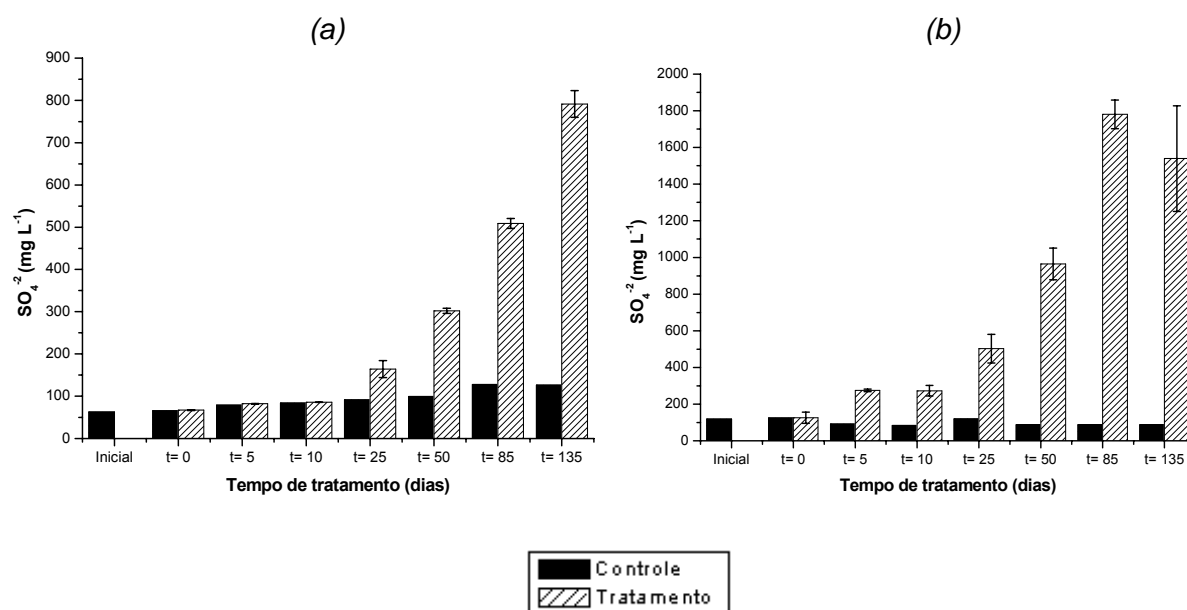
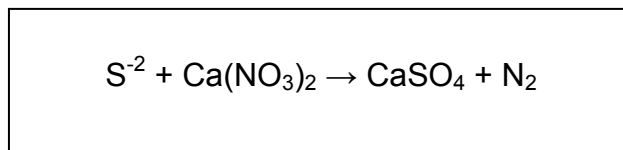


FIGURA 13. Perfil de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) em (a) interface sedimento-água (b) água intersticial.

A crescente concentração de sulfatos nas amostras analisadas está relacionada com a queda da concentração de SVA, ao longo do tempo de tratamento. Este fato comprova a capacidade do nitrato como efetivo aceptor de elétrons, já que a adição de nitrato nos sedimentos facilita o processo de oxidação dos sulfetos, como expresso na FIGURA 14:



FIGURA 14. Reação de oxidação dos sulfetos pelo nitrato (BABIN *et al.*, 2003).



O declínio das concentrações de SVA nos sedimentos dos microcosmos-tratamento foi mais evidente a partir do tempo de tratamento t=10 dias, com cerca de 30 % de queda em relação ao valor de SVA do sedimento do microcosmo-controle do mesmo período, chegando em t=135 dias com cerca de 99 % de abatimento em relação ao controle (FIGURA 15).

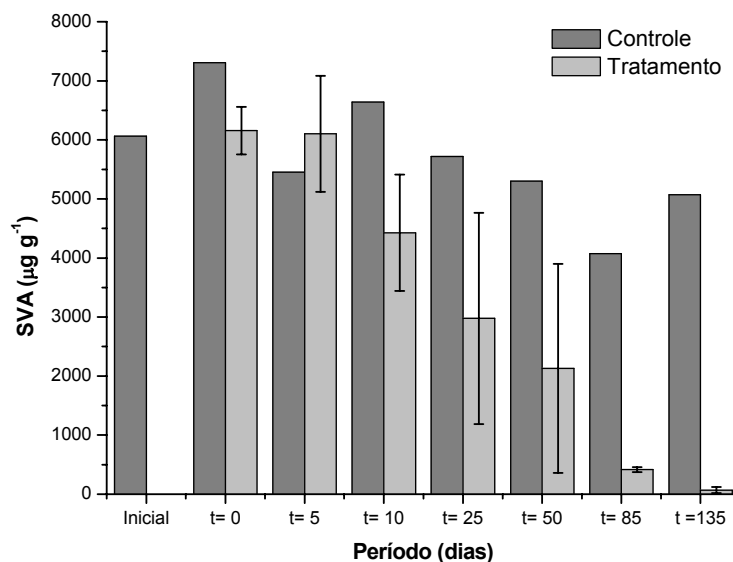


FIGURA 15. Concentração de SVA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) nos sedimentos dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

Embora o sulfato tenha sido inicialmente apontado como um dos possíveis agentes causadores de toxicidade para os organismos-teste deste trabalho, algumas considerações levam a crer que a toxicidade não foi manifestada como uma resposta direta a apenas um agente tóxico. Isso decorre da constatação que ao longo do tempo os valores de sulfato nas amostras de água analisadas não ultrapassam valores referencia de toxicidade deste analito para o organismo *C. dubia*.

SOUCEK e KENNEDY (2005) encontraram, para *C. dubia*, valores de CL50;48h entre 2.050 e 2.526  $\text{mg SO}_4^- \text{L}^{-1}$ . Os testes realizados por estes autores

avaliaram a influência de algumas variáveis, entre elas a dureza da água, para aferir a toxicidade do sulfato aos organismos *C. dubia* e *Hyalella azteca*. Para ambos os organismos, a toxicidade do sulfato foi menor em testes realizados com água dura (107 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) do que em testes realizados com água moderadamente duras (90 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>).

Os valores de CL50;48h de SOUCEK e KENNEDY (2005) para *C. dubia* estão acima do máximo valor de concentração de sulfato encontrado nas águas intersticiais dos sedimentos (1.780,69 mg SO<sub>4</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) e de interface sedimento-água (791,40 mg SO<sub>4</sub><sup>-</sup> L<sup>-1</sup>) de nossos experimentos. A dureza da água da Represa Ibirité gira em torno de 100 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, o que naturalmente reduziria a toxicidade do sulfato. Embora esta variável não tenha sido acompanhada durante o experimento em microcosmos, supõe-se que a adição de nitrato de cálcio nos sedimentos tenha aumentado consideravelmente este valor.

## 5.4 Toxicidade X Metais

### 5.4.1 Metais em amostras de água

Dentre os metais analisados (alumínio, cobre, níquel, ferro, manganês, chumbo e zinco) não foi detectado o cobre nas amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento em nenhum tempo de tratamento. Os metais alumínio, níquel e chumbo foram detectados em alguns períodos, mas não é possível estabelecer uma relação com o tempo de experimento, visto que foram detectados aleatoriamente nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

Os metais com maiores valores de concentração encontrados nas águas de interface sedimento-água são o ferro e o manganês, que se diferenciaram entre os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. Na FIGURA 16, que apresenta um dendograma de ACH (Análise de *Cluster* Hierárquica), são observados dois grupos distintos na análise desses metais: um grupo composto pelo microcosmo-controle e o outro composto pelas réplicas dos microcosmos-tratamento.

Este resultado está relacionado à oxidação dos sulfetos, comprovada pelo abatimento do SVA. Os metais ferro e manganês são majoritários na crosta terrestre e FeS e MnS constituem algumas formas geoquímicas dominantes de SVA, além,

evidentemente, dos sulfetos de outros metais considerados tóxicos como o Cd, Pb, Ni, Hg, Cr e Zn (COOPER e MORSE, 1998; COOPER e MORSE, 1999). Após a oxidação, esses metais, que estavam complexados ao sulfeto, foram liberados para a água intersticial e água de interface sedimento-água.

Os valores obtidos para metais em água de interface sedimento-água, para os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento estão apresentados na TABELA 5.

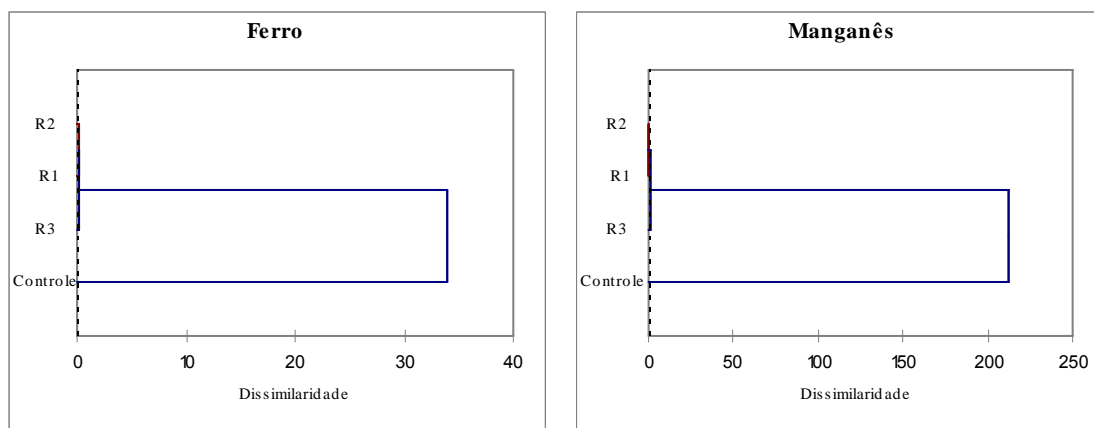


FIGURA 16. Dendrograma ACH considerando ferro e manganês para água de interface sedimento-água dos microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento. R1; R2; R3 são as réplicas dos microcosmos-tratamento.

TABELA 5. Concentração (mg L<sup>-1</sup>) de metais dissolvidos nas águas de interface sedimento-água nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

Metal	Microcomo	Tempo de tratamento (dias)							
		Inicial	t=0	t=5	t=10	t=25	t=50	t=85	t=135
Al	Controle	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10
	Tratamento		< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	0,130	< 0,10	< 0,10
	dp		-	-	-	-	0,042	-	-
Cu	Controle	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
	Tratamento		< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Ni	Controle	0,007	0,008	< 0,005	< 0,005	0,013	0,025	0,030	0,021
	Tratamento		< 0,005	< 0,005	< 0,005	0,008	0,010	0,016	0,015
	dp					0,002	0,005	0,003	0,002
Fe	Controle	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10
	Tratamento		< 0,10	0,510	5,380	3,800	1,267	< 0,10	< 0,10
	dp		-	0,090	0,209	0,265	0,058	-	-
Mn	Controle	< 0,02	0,380	0,660	1,620	2,520	1,530	< 0,02	0,650
	Tratamento		0,747	3,180	4,853	7,947	9,387	9,170	10,143
	dp		0,102	0,207	0,186	0,658	0,417	0,075	0,545
Pb	Controle	0,008	0,005	0,001	< 0,001	< 0,001	0,003	< 0,001	< 0,001
	Tratamento		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,008	< 0,001	< 0,001
	dp		-	-	-	-	0,012	-	-
Zn	Controle	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,020	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
	Tratamento		< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Nas águas intersticiais dos sedimentos, os metais alumínio, cobre, chumbo e zinco foram detectados em alguns períodos, mas, assim como observado para as águas de interface sedimento-água, a detecção destes metais foi aleatória e também não é observado um perfil nas concentrações de acordo com o tempo de experimento. O níquel aparece com maior concentração em todos os períodos nas amostras dos microcosmos-tratamento em relação aos microcosmos-controle, mas a ACH, mostrada na FIGURA 17, não indica diferenciação entre os grupos de microcosmos-tratamento e microcosmos-controle. Já os metais ferro e manganês são muito mais evidentes nas amostras de água intersticial dos sedimentos dos que os demais metais, e a ACH na FIGURA 17 mostra dois grupos bem distintos entre os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. A TABELA 6 trás os valores dos metais obtidos para os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento ao longo do tempo de tratamento de tratamento.

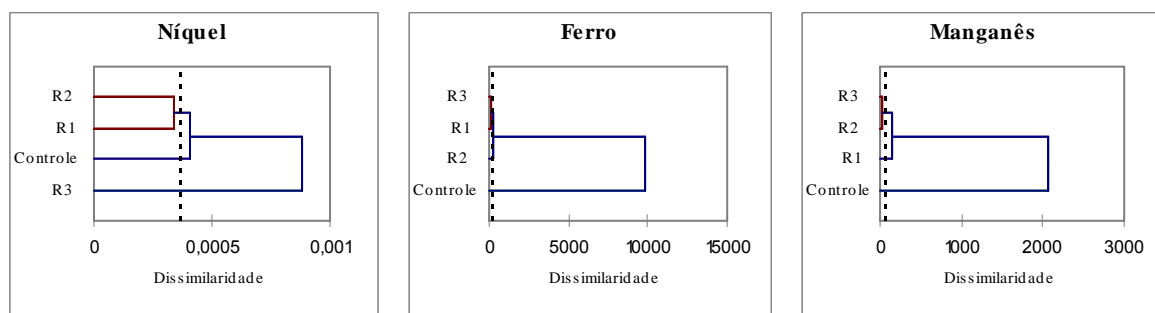


FIGURA 17. Dendrograma ACH considerando níquel, ferro e manganês para água intersticial dos sedimentos nos microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento. R1; R2; R3 são as réplicas dos microcosmos-tratamento.

TABELA 6. Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de metais dissolvidos em águas intersticiais dos sedimentos nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

Metal	Microcomo	Tempo de tratamento (dias)							
		Inicial	t=0	t=5	t=10	t=25	t=50	t=85	t=135
Al	Controle	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	0,480	< 0,10
	Tratamento	< 0,10	< 0,10	0,390	0,197	< 0,10	0,213	< 0,10	< 0,10
	dp	-	-	0,434	0,134	-	0,123	-	-
Cu	Controle	< 0,004	0,006	0,018	0,008	< 0,004	< 0,004	< 0,004	0,006
	Tratamento	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Ni	Controle	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005	0,008	< 0,005	0,010	0,012
	Tratamento	< 0,005	0,009	0,012	0,011	0,015	0,010	0,021	0,033
	dp	-	0,001	0,003	0,001	0,007	0,001	0,012	0,013
Fe	Controle	0,140	0,800	1,410	3,370	9,400	< 0,10	0,870	0,150
	Tratamento	< 0,10	100,300	37,700	46,833	13,067	2,367	1,903	< 0,10
	dp	-	8,676	3,306	1,320	10,302	0,493	0,497	-
Mn	Controle	7,900	7,310	6,840	6,450	14,900	3,080	4,200	4,730
	Tratamento	< 0,10	41,533	34,367	30,767	13,267	13,167	11,833	12,900
	dp	-	0,306	1,716	0,404	7,984	2,250	1,185	3,466
Pb	Controle	0,002	< 0,001	0,002	0,003	0,006	0,008	< 0,001	< 0,001
	Tratamento	< 0,001	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	< 0,001	< 0,001
	dp	-	0,003	0,002	0,001	0,001	0,001	-	-
Zn	Controle	0,043	0,036	0,022	< 0,02	0,027	0,026	< 0,02	< 0,02
	Tratamento	< 0,02	0,049	< 0,02	< 0,02	0,032	0,039	< 0,02	< 0,02
	dp	-	0,011	-	-	0,005	0,010	-	-

Entre os metais analisado, o manganês foi o que mais se destacou quanto alguma possível relação com a toxicidade observada nos testes de toxicidade. Este metal foi detectado nas amostras de água de todos os períodos analisados e parece apresentar um perfil claro de queda das concentrações nas águas intersticiais e aumento nas águas de interface sedimento-água.

Os valores de CL50;48h do manganês para *C. dubia* variam de 17 a 20  $\text{mg Mn L}^{-1}$  (HOCKETT e MOUNT, 1996); 15  $\text{mg Mn L}^{-1}$  (LASIER *et al.*, 2000); e 12,7  $\text{mg Mn L}^{-1}$  (STUBBLEFIELD *et al.*, 1997 apud LASIER *et al.*, 2000). Independente da

literatura utilizada como fonte para comparações, as médias das concentrações de manganês encontradas para as águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-tratamento neste trabalho são superiores aos dados de CL50 existentes, mas diminuem ao longo do tempo, chegando a 12,9 mg Mn L<sup>-1</sup>, em t=135 dias. Para as águas de interface sedimento-água, as concentrações de Mn são inferiores às CL50;48h e crescem ao longo do tempo do experimento, chegando a 10,14 mg Mn L<sup>-1</sup>, em t=135 dias (TABELA 7).

TABELA 7. Concentração média de Mn e CE50; 48h (*C. silvestrii*) para amostras de água de interface sedimento-água e água intersticial dos microcosmos-tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	Interface sedimento-água		Intersticial sedimento-água	
	Mn (mg L <sup>-1</sup> )	CE50 (%) <i>C. silvestrii</i>	Mn (mg L <sup>-1</sup> )	CE50 (%) <i>C. silvestrii</i>
t=0	0,74 (±0,10)	SE <sup>†</sup>	41,53 (±0,30)	12,5
t=5	3,18 (±0,20)	SE	34,36 (±1,71)	5,01 (±0,46)
t=10	4,85 (±0,18)	62,81(±2,61)	30,76 (±0,40)	4,98 (±0,53)
t=50	9,38 (±0,41)	20,68 (±1,73)	13,16 (±2,25)	2,5
t=85	9,17 (±0,07)	17,19 (±2,93)	11,83 (±1,18)	2,66 (±0,97)
t=135	10,14 (±0,54)	20,68 (±1,73)	12,90 (±3,46)	66,11 (±5,45)
CE50 referência	15*			

\* LASIER *et al.*, 2000

A relação da toxicidade das amostras para *V. fischeri* também não pode ser estabelecida de forma direta com as concentrações de metais analisados. O tempo de tratamento de máxima concentração de ferro e manganês nas águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-tratamento não coincide com o tempo de tratamento de máxima toxicidade da amostra à bactéria. Em relação aos metais cobre, chumbo e zinco, não foi detectado nenhum valor das águas intersticiais que superem valores de CE50;15' encontrados por TSIRIDIS *et al.* (2006). Neste trabalho, foram avaliados os efeitos de diferentes concentrações de substâncias húmicas à toxicidade dos metais Cu, Zn e Pb para *V. fischeri*, e os valores de CE50;15' encontrados foram de 0,2 – 0,46 mg Cu L<sup>-1</sup>; 1,32 – 1,6 mg Zn L<sup>-1</sup> e 0,14 – 0,5 mg Pb L<sup>-1</sup>.

As observações apresentadas acima e os resultados obtidos para *C. silvestrii* e *V.fischeri* contribuem para a conclusão de que, muitas vezes, a relação entre

concentração de elementos potencialmente tóxicos e o efeito gerado em um organismo não é direta, sendo muito raro apenas um contaminante ser responsabilizado pela toxicidade de uma amostra ambiental.

#### 5.4.2 Metais em amostras de sedimento

Para metais em sedimento, não é observada diferença clara entre os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. Os valores obtidos para as concentrações de metais em sedimento são apresentados na TABELA 8. A FIGURA 18 mostra que, de modo geral, há uma mesma tendência dos metais em sedimento para os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

TABELA 8. Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$  de sedimento seco) de metais biodisponíveis nos sedimentos dos microcosmos-controle e tratamento.

Metal	Microcosmo	Tempo de tratamento (dias)							
		Inicial	t=0	t=5	t=10	t=25	t=50	t=85	t=135
Al	Controle	67697,90	66836,45	67257,61	66556,37	72215,77	70244,79	64950,00	66450,00
	Tratamento		70287,55	66537,28	71156,49	72880,09	68563,53	68600,00	66216,67
	dp		1658,03	675,24	3741,66	1192,70	2050,72	3121,30	2327,19
Cu	Controle	109,69	117,42	115,47	105,63	118,86	110,28	130,00	128,00
	Tratamento		119,32	108,12	111,97	116,11	110,86	129,67	128,17
	dp		4,07	5,14	1,72	2,32	3,04	1,53	3,33
Ni	Controle	28,20	25,90	30,40	29,75	31,80	29,70	29,20	27,90
	Tratamento		25,90	28,00	27,45	33,05	30,15	29,72	30,57
	dp		1,10	3,50	0,05	1,52	2,49	1,38	1,07
Fe	Controle	52512,53	53867,54	54191,49	49091,45	54939,17	52883,53	42100,00	41175,00
	Tratamento		52422,72	49625,50	49848,42	53497,11	51562,99	40716,67	41866,67
	dp		907,29	938,85	871,35	1568,46	888,43	340,34	1936,71
Mn	Controle	783,00	815,00	780,00	707,00	812,00	784,00	760,00	704,50
	Tratamento		761,75	702,00	695,00	712,00	666,50	581,33	670,00
	dp		23,25	9,17	3,00	35,59	60,72	7,77	33,29
Pb	Controle	37,30	30,60	28,50	43,50	46,20	35,50	39,00	38,00
	Tratamento		30,53	39,10	42,35	38,23	37,38	40,50	41,00
	dp		0,38	8,61	2,45	4,58	2,83	2,60	3,46
Zn	Controle	77,49	78,08	78,40	72,67	79,57	76,54	77,00	76,00
	Tratamento		77,34	74,52	75,11	79,77	76,27	77,58	88,32
	dp		2,70	3,26	2,33	3,45	0,72	1,66	4,35

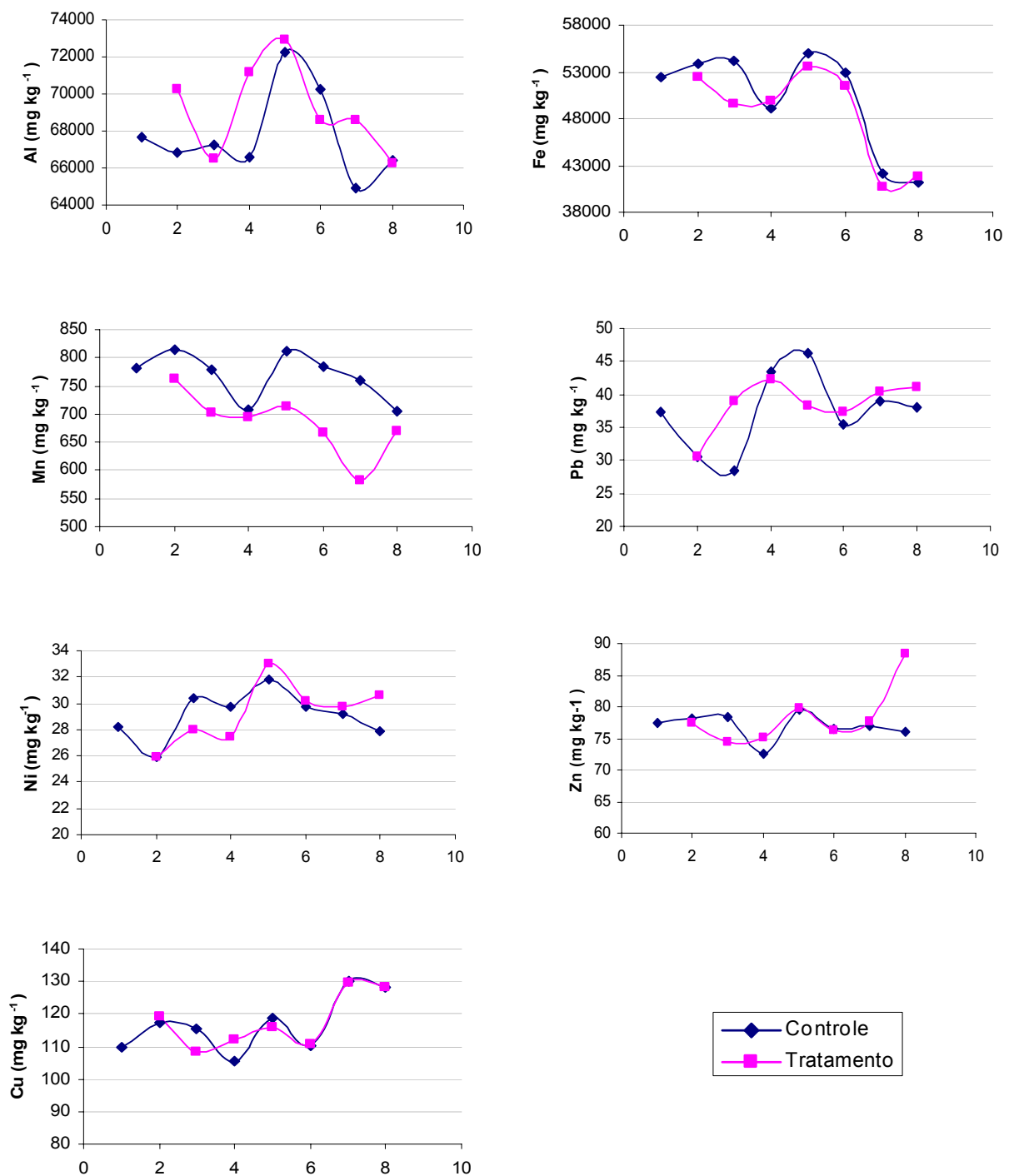


FIGURA 18. Gráfico de tendência dos metais em sedimento ao longo do tempo de experimento para amostras dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento.

Em relação à toxicidade, as concentrações de alguns metais biodisponíveis em sedimento foram superiores a critérios de qualidade (QUADRO 4), inclusive nos sedimentos dos microcosmos-controle que não oferecem toxicidade para *C. xanthus*, a não ser para o tempo de tratamento  $t=50$  dias. Desta forma, também não



há como estabelecer uma relação direta da toxicidade dos sedimentos dos microcosmos-tratamento ao organismo *C. xanthus*.

QUADRO 4. Critérios de qualidade de sedimentos.

Metal (mg kg <sup>-1</sup> )	Valores-Guia de Qualidade de Sedimentos (BURTON, 2002)	
	TEL*	PEL**
Cu	35,7	197
Ni	18	36
Pb	35	91,3
Zn	123	315

\* TEL: *Threshold Effect Level* (Nível Limiar de Efeito) – Concentração abaixo da qual efeitos biológicos adversos ocorrem raramente

\*\* PEL: *Probable Effect Level* (Nível Provável de efeito) – Concentração acima da qual efeitos biológicos adversos ocorrem com frequência.

A toxicidade de metais a organismos bentônicos é geralmente avaliada através de testes com maior tempo de exposição do que os testes de toxicidade aguda. JANSSENS DE BISTHOVEN *et al.* (1998) relatam que os testes crônicos oferecem *end points*, tais como desenvolvimento e crescimento, mais sensíveis que a sobrevivências. Além disso, PASCOE *et al.* (1989) concluíram, com base em testes de toxicidade aguda, que quironomídeos são relativamente tolerantes aos metais pesados.

Como o objetivo deste trabalho não é exatamente avaliar o organismo e sim avaliar a resposta frente a uma amostra ambiental manipulada, os testes com *C. xanthus* indicam claramente a toxicidade das amostras dos microcosmos-tratamento, muito embora não se possa precisar as possíveis causas desse resultado. Desta forma, visto a ausência da toxicidade no tempo final de tratamento (t= 135 dias), testes crônicos com organismos bentônicos poderiam ser utilizados para acompanhar as conseqüências da aplicação de nitrato nos sedimentos da Represa Ibirité.

#### 5.4.3 MES e SVA

A ausência de toxicidade provocada pelos metais cádmio, cobre, níquel, chumbo e zinco, principalmente aos organismos *C. silvestrii* e *V. fischeri*, pode ser também diagnosticada após análise dos resultados de MES. Os dados dos metais na fração MES indicaram uma leve queda ao longo do tempo tanto para os

microcosmo-controle, enquanto os valores o somatório dos MES obtidos para os microcosmos-tratamento aumentaram para o último tempo de tratamento (t=135 dias) (FIGURA 19). As concentrações de MES estão coerentes com os resultados obtidos para metais em sedimento, cujos valores de concentração nos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento não são diferentes entre si e em relação ao tempo.

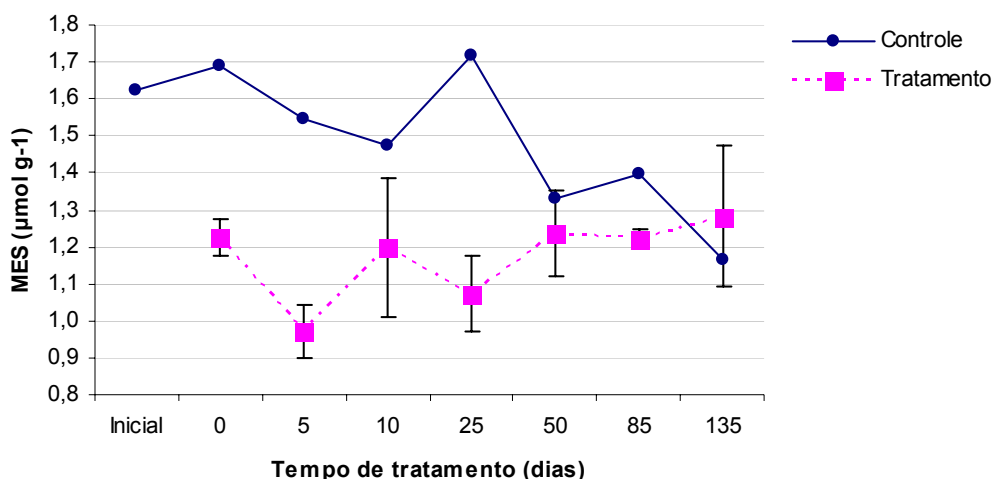


FIGURA 19.  $\Sigma$ MES para microcosmos-controle e microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

Para todos os períodos de tratamento anteriores a t=135 dias, a diferença [MES]-[SVA] foi menor que 0, indicando que não há excesso dos metais analisados (Cd, Cu, Pb, Ni e Zn) em relação ao SVA (USEPA, 2000). Em t=135 dias, a oxidação dos sulfetos contribuiu para que a  $[\Sigma$ MES]-[SVA] tenha sido positiva para duas das três réplicas dos microcosmos-tratamento. No entanto, através dos resultados obtidos com os testes de toxicidade, nota-se que este dado não teve implicações no aumento da toxicidade neste tempo de tratamento (TABELA 9).

Além disso, sabendo que 99% do SVA já foram abatidos em t=135 dias e a liberação de metais presos ao SVA não deve ser superior a já ocorrida, não deve ser esperado o aumento da toxicidade (decorrente do MES) em período superior a este. Em complemento a este fato, outras fases, que não o SVA, podem atenuar a biodisponibilidade de metais, como é o caso do carbono orgânico dissolvido (COD), e abater a sua toxicidade (LEONARD *et al.*, 1996).

TABELA 9.  $\Sigma$ MES - SVA ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) para os microcosmos-controle e réplicas dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	Microcosmo	$\Sigma$ MES	SVA	$\Sigma$ MES - SVA
Inicial	Inicial	1,626	188,88	-187,252
t= 0	Controle	1,688	227,652	-225,965
	Tratamento 1	1,175	200,600	-199,425
	Tratamento 2	1,271	182,959	-181,688
	Tratamento 3	1,227	52,476	-51,248
t= 5	Controle	1,547	169,908	-168,361
	Tratamento 1	1,001	224,006	-223,004
	Tratamento 2	1,020	164,782	-163,762
	Tratamento 3	0,891	181,561	-180,670
t= 10	Controle	1,475	206,840	-205,365
	Tratamento 1	0,987	172,657	-171,669
	Tratamento 2	1,341	114,471	-113,130
	Tratamento 3	1,264	126,554	-125,290
t= 25	Controle	1,715	178,088	-176,373
	Tratamento 1	1,173	117,540	-116,367
	Tratamento 2	0,971	80,833	-79,862
	Tratamento 3	1,077	8,003	-6,926
t= 50	Controle	1,331	165,077	-163,746
	Tratamento 1	1,128	116,319	-115,191
	Tratamento 2	1,362	75,562	-74,200
	Tratamento 3	1,218	7,159	-5,941
t= 85	Controle	1,399	126,98	-125,585
	Tratamento 1	1,252	12,12	-10,869
	Tratamento 2	1,228	12,31	-11,081
	Tratamento 3	1,204	14,48	-13,272
t= 135	Controle	1,166	220,337	-219,170
	Tratamento 1*	3,181	1,107	2,075
	Tratamento 2	1,559	1,326	0,233
	Tratamento 3	1,265	4,007	-2,742

\* Desconsiderado na interpretação dos resultados de MES

Um dos dados obtidos na análise de uma das réplicas, apresentado na TABELA 6, não foi utilizado para a interpretação dos resultados, uma vez que ele é discrepante dos demais e foi forçado a um alto valor devido à concentração de zinco no MES deste extrato. Suspeita-se que o alto valor de zinco apresentado nas análises tenha sido gerado por possível contaminação

## 5.5 Considerações sobre o método de intervenção dos sedimentos da Represa Ibirité com nitrato de cálcio

### 5.5.1 Potencial Redox

Como visão geral da aplicação de nitrato nas amostras de sedimentos da Represa Ibirité, os valores encontrados para o potencial redox deixam clara a possibilidade de ação do nitrato como um agente oxidante dos sedimentos. Trabalhos de MURPHY *et al.* (1995) e MCAULIFFE *et al.* (1998) também relatam este comportamento, sendo que quanto maior a concentração de nitrato adicionado, maior a possibilidade de aumento dos valores de potencial redox dos sedimentos. Segundo ANDERSEN (1982), a presença do nitrato contribui, de forma similar ao oxigênio para a estabilização do potencial redox em níveis altos, tanto na coluna d'água quanto nos sedimentos.

De acordo com os resultados obtidos para cada tempo de tratamento, a adição de nitrato alterou o potencial redox ( $E_H$ ) dos sedimentos dos microcosmos-tratamento, com médias acima dos microcosmos-controle em todos os períodos de abertura. No tempo de tratamento  $t=135$  dias, a diferença dos sedimentos dos microcosmos-tratamento em relação ao microcosmo-controle foi mais evidente devido aos valores de  $E_H$  positivos em todas as réplicas dos microcosmos-tratamento, o que gerou uma média positiva (FIGURA 20). Os resultados de  $E_H$  para os sedimentos dos microcosmos-controle e média dos sedimentos dos microcosmos-tratamento são apresentados na TABELA 24 do ANEXO 4.

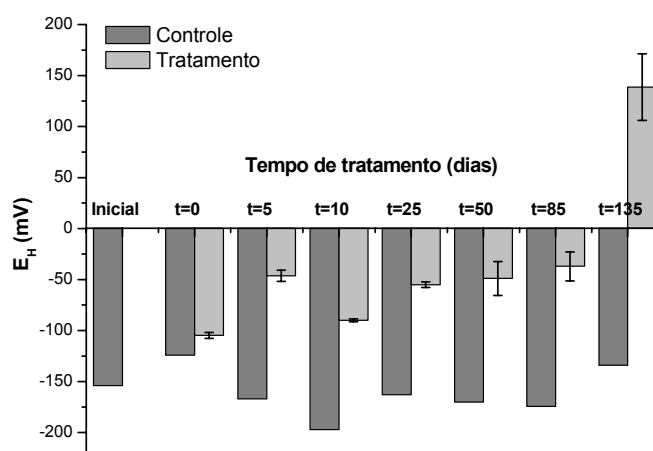


FIGURA 20. Potencial redox ( $E_H$ ) (mV) dos sedimentos inicial, microcosmos-controle e média dos microcosmos-tratamento em cada tempo de tratamento.

Os dados de  $E_H$  confirmaram o que era esperado pela observação visual dos sedimentos dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento. Ao longo dos períodos de abertura, os sedimentos dos microcosmos-tratamento mostraram uma coloração mais alaranjada, característica do processo de oxidação do ferro (FOY, 1986), que cresceu a partir da interface sedimento-água até o fundo do sedimento, em  $t=135$  dias (FIGURA 21).

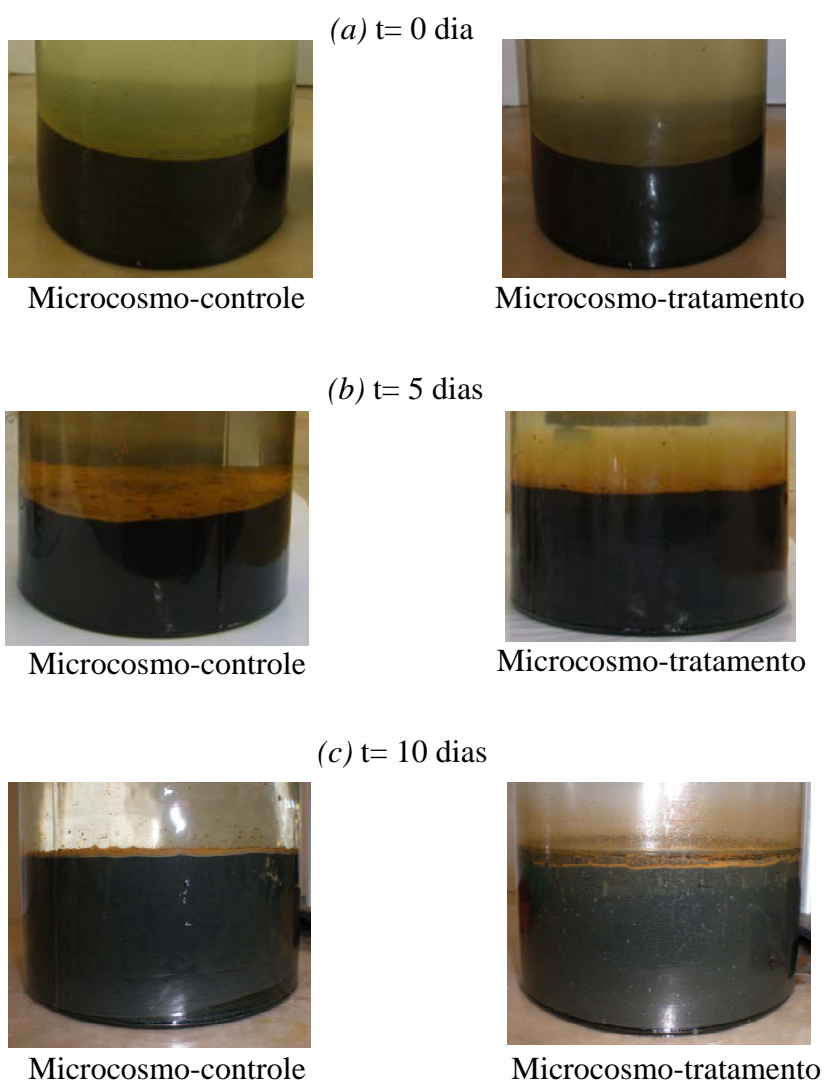
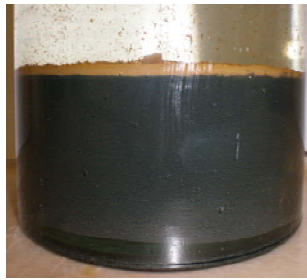


FIGURA 21. Sedimentos dos microcosmos-controle e de uma réplica de cada tempo de tratamento para os microcosmos-tratamento: (a)  $t=0$  dia, (b)  $t=5$  dias, (c)  $t=10$  dias; (d)  $t=25$  dias (e)  $t=50$  dias, (f)  $t=85$  dias, (g)  $t=135$  dias.

(d) t= 25 dias



Microcosmo-controle



Microcosmo-tratamento

(e) t= 50 dias



Microcosmo-controle



Microcosmo-tratamento

(f) t= 85 dias



Microcosmo-controle



Microcosmo-tratamento

(g) t= 135 dias



Microcosmo-controle



Microcosmo-tratamento

FIGURA 21. (Continuação). Sedimentos dos microcosmos-controle e de uma réplica de cada tempo de tratamento para os microcosmos-tratamento: (a) t=0 dia, (b) t=5 dias, (c) t=10 dias; (d) t=25 dias (e) t=50 dias, (f) t=85 dias, (g) t=135 dias.

## 5.5.2 pH

O pH das águas de interface sedimento-água dos microcosmos-tratamento foram inferiores às mesmas amostras dos microcosmos-controle na maioria dos tempos de tratamento. Ao longo do tempo, uma tendência à queda do pH é observada tanto para as amostras de água de interface sedimento-água dos microcosmos-controle quanto para as amostras dos microcosmos-tratamento. Em ambos, os valores de pH giraram em torno de 6 e 7,4 (FIGURA 22a). Para as águas intersticiais dos sedimentos, a diferença entre os microcosmos-controle e microcosmos-tratamento é menos clara e as medidas indicaram valores entre 6,4 e 7,0 (FIGURA 22b).

Os valores de pH asseguraram o desenvolvimento dos testes de toxicidade com as amostras de água de interface sedimento-água e água intersticial sem que houvesse necessidade de qualquer correção. De fato, as normas para os testes de toxicidade empregados não são muito restritas quanto aos valores de pH das amostras a serem testadas. CETESB (2001) recomenda valores de pH entre 6,0 e 8,5, os quais estando fora desta faixa deve sofrer correções com adição de um volume suficiente de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. Para ABNT (2004), os valores aceitáveis são de pH são de 5,0 a 9,0.

Os resultados de pH para as águas dos microcosmos-controle e média dos valores para as águas dos microcosmos-tratamento são apresentados na TABELA 25 do ANEXO 4.

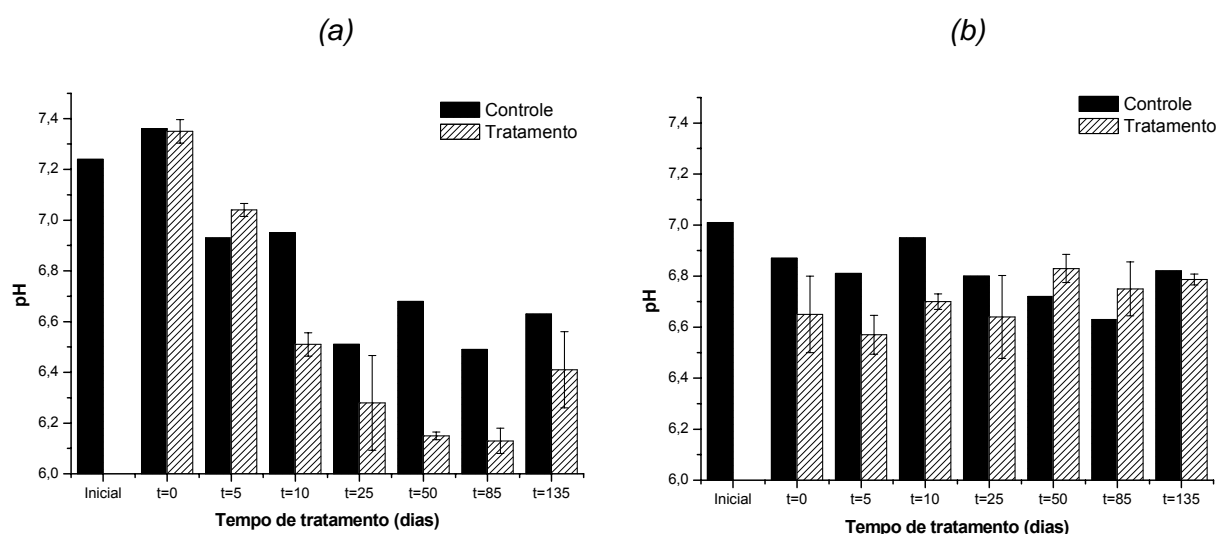


FIGURA 22. pH das amostras de (a) água de interface sedimento-água e (b) água intersticial.

### 5.5.3 Ortofosfato

A avaliação da eficiência da intervenção dos sedimentos da Represa Ibirité, do ponto de vista químico, está em desenvolvimentos no LBGqA (UFSCar) através de uma tese de doutorado (Yamada, 2009). No entanto alguma contextualização sobre a capacidade de retenção do fósforo nos sedimentos pode ser realizada com base nas concentrações desse analito nas águas de interface sedimento-água e nas águas intersticiais.

Como pode ser observado na FIGURA 23, a concentração de ortofosfato aumenta ao longo do tempo tanto para os microcosmos-controle como para os microcosmos-tratamento. No entanto, nos microcosmos-tratamento, a liberação de ortofosfato dos sedimentos para a água de interface sedimento-água é menor do que nos microcosmos-controle.

Até 135 dias de experimento, não foi possível definir se a máxima liberação de fósforo ocorreu, visto que não há na água de interface sedimento-água uma queda após o pico máximo de concentração que ocorreu justamente em  $t=135$  dias tanto para o microcosmo-controle ( $1,7 \text{ mg PO}_4^{-3} \text{ L}^{-1}$ ), quanto para o microcosmo-tratamento ( $0,91 \text{ mg PO}_4^{-3} \text{ L}^{-1}$ ). No entanto, se relacionadas a liberação de fósforo com as concentrações de ferro dissolvido na água de interface sedimento-água, pode-ser perceber que no último tempo de tratamento, a concentração de íons ferro esteve abaixo do limite de detecção. Isso indica que o potencial de adsorção o fósforo e posterior precipitação do complexo óxido-hidróxidos de ferro podem diminuir. Assim, a maior liberação do fósforo após o período  $t= 135$  dias é esperada.

A tendência acima relatada é ainda confirmada com os dados de oxidação do SVA superiores a 99%. Como já foi retratado no item 5.4.1, as mais abundantes formas de sulfetos metálicos são de ferro (FeS) e a liberação desse metal por oxidação do SVA não deve mais ser esperada.

Os valores das concentrações de ortofosfato nas águas dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento para cada tempo de tratamento são apresentadas na TABELA 23 do ANEXO 4.



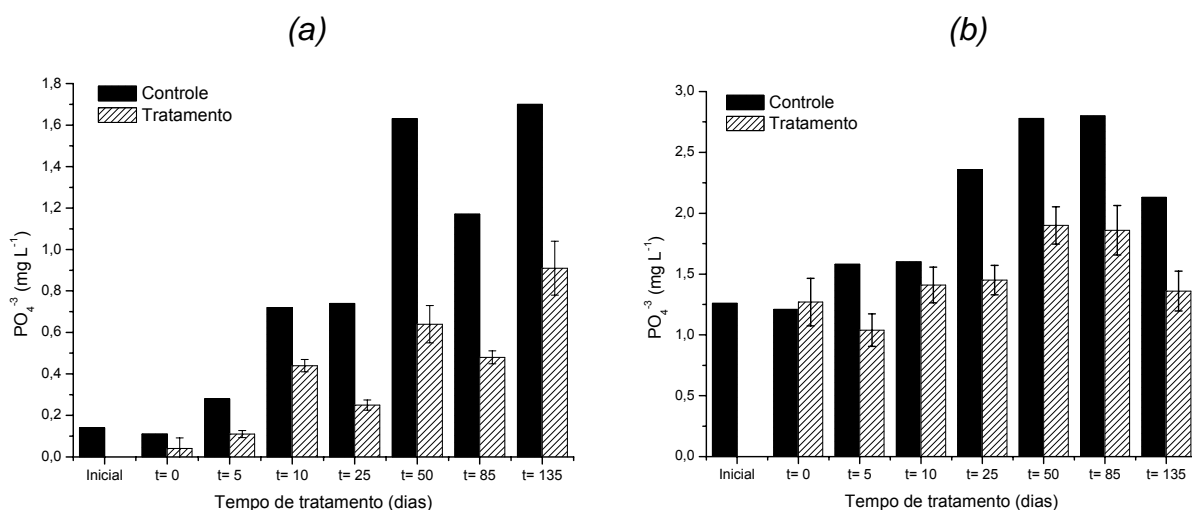


FIGURA 23. Concentração de ortofosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em (a) águas de interface sedimento-água e (b) águas intersticiais, dos microcosmos-controle e microcosmos-tratamento (Yamada, 2009).

#### 5.5.4 Nitrato

Os altos valores de  $\text{N-NO}_3^-$  na água de interface logo após a aplicação de nitrato no sedimento evidenciam o seu desprendimento para a coluna d'água. Segundo WAUER *et al.* (2005a), este é um resultado esperado, devido a alta que alta solubilidade deste sal. Além disso, supõe-se que a adição da água de interface durante a montagem dos microcosmos possa ter contribuído para este resultado logo nas primeiras horas após a aplicação.

No entanto, valores altos de nitrato encontrados na água de interfaces sedimento-água, chegando a concentrações superiores a  $200 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$  em t=85 dias, podem indicar a baixa capacidade de utilização do nitrato adicionado nos sedimentos. Em contrapartida, ao serem analisados os dados de nitrato nas águas intersticiais dos sedimentos, observa-se queda dos altos valores de  $\text{N-NO}_3^-$  ao longo do tempo do experimento, que não é proporcional ao aumento da concentração na água de interface.

Uma evidência da utilização do nitrato no citado processo redox é o aumento das concentrações de  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{NH}_3$  nas águas intersticiais e de interface o que remete a diferentes caminhos no processo de redução desassimilatória do nitrato. RIPL (1976) assume que o nitrato adicionado em tratamentos de ambientes aquáticos é completamente metabolizado a  $\text{N}_2$ , não tendo encontrado valores expressivos de nitrito e amônia. FOY (1985) ressalta a possibilidade de processos

microbiológicos levarem à formação de amônia e nitrito. No entanto, também em seu estudo, a desnitrificação ao nitrogênio elementar foi a reação dominante, embora algum teor de amônia tenha sido observado concomitantemente à diminuição das concentrações de nitrato. SONDERGAARD *et al.* (2000) notaram aumento expressivo nas concentrações de amônia em estudo semelhante. Em todos os trabalhos citados, não há evidências de concentrações crescentes de nitrito, como as encontradas neste trabalho.

A bioquímica desassimilatória do nitrato pode ser compreendida como verdadeira, quando o produto final é o  $N_2$ , ou parcial quando o produto final é  $NO_2^-$ . De qualquer forma, a redução do nitrato a  $NO_2^-$  ou a  $N_2$  parece estar relacionada à população microbiana do ambiente em questão e à eficiência dos processos microbianos (MADIGAN e MARTINKO, 2006). De fato, o aumento de nitrito observado neste estudo para as águas intersticiais e de interface sedimento-água, deixam claro a existência de uma população predominantemente de bactérias redutoras de nitrato a nitrito ( $2,7 \times 10^6$  NMP  $mL^{-1}$ ) em relação às redutoras de nitrato a nitrogênio molecular ( $3,2 \times 10^3$  NMP  $mL^{-1}$ ), como mostram os dados obtidos por estudos microbiológicos aplicados ao sedimento inicial (CENPES/PDEDS/BTA, 2008). No entanto, para que este dado seja confirmado seriam necessários estudos microbiológicos mais aprofundados e comparativos dos processos microbiológicos em função do tratamento aplicado aos sedimentos da Represa Ibirité.

### **5.5.5 Recomendações**

Os riscos associados ao tratamento com adição do nitrato se tornam evidentes a partir dos dados químicos encontrados neste trabalho. Os primeiros 85 dias de observação da toxicidade foram decisivos para esta interpretação. Além dos possíveis efeitos de toxicidade à vida aquática, ANDERSEN (1982) ressalta a possibilidade do aumento da biomassa fitoplanctônica, visto que em alguns reservatórios, a produção primária pode ser limitada pelo nitrogênio inorgânico. Desta forma, caso o método de aplicação do nitrato para cada sítio específico de estudo não esteja corretamente delineado, podem ser observados efeitos agravantes no processo de eutrofização, bem como, sobre a toxicidade.

No entanto, os resultados obtidos no tempo de tratamento  $t=135$  dias permitem postular que os sedimentos tratados podem recuperar a capacidade de

abrigar uma comunidade bentônica. Além disso, os efeitos adversos provocados a organismos presentes na coluna d'água podem ser reduzidos com o tempo após a aplicação do nitrato.

Os dados biogeoquímicos do processo, que estão sendo levantados, são de extrema importância para os ajustes necessários que implicariam em uma possível aplicação da técnica em campo. Uma pesquisa mais aprofundada deve buscar alicerces para que os dados gerados sejam os mais realísticos possível. Assim, pode-se confirmar que as consequências ecotoxicológicas em campo serão as mesmas das apresentadas nos microcosmos.

O conjunto de dados deste trabalho também mostra que a implantação de um programa de tratamento dos sedimentos da Represa de Ibité, com a adição de nitrato, pode ser viável apenas após um estudo detalhado do impacto deste tratamento à comunidade aquática *in situ*, tendo em vista todos os riscos e implicações apresentadas. A aplicação de nitrato nos sedimentos da Represa Ibité deve ser ainda avaliada segundo os benefícios e objetivos primários deste tipo de tratamento, ou seja, retenção do fósforo nos sedimentos. Estudos limnológicos que acompanhem os efeitos das implicações geradas pela possível oligotrofização do corpo d'água também devem ser considerados, caso este método de tratamento venha a ser aplicado na Represa Ibité.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho propiciaram o estabelecimento das seguintes conclusões:

- Estritamente do ponto de vista ecotoxicológico e considerando as condições experimentais impostas neste trabalho, a aplicação do nitrato de cálcio para remediação dos sedimentos da Represa Ibirité pode ser considerada inviável como forma de intervenção, ao menos até o tempo de 85 dias de tratamento ou incubação, visto que a toxicidade foi abatida no tempo subsequente de 135 dias.
- O organismo *C. silvestrii* respondeu ao objetivo proposto para este trabalho e mostrou que as amostras de água foram tóxicas com a aplicação do nitrato de cálcio nos sedimentos. A toxicidade dessas amostras para *C. silvestrii* foi observada até o tempo de 135 dias, muito embora, tenha sido observado um aumento da CE50;48h neste mesmo tempo de tratamento tanto para as águas de interface sedimento-água como para as águas intersticiais.
- O organismo *Vibrio fischeri*, utilizado para avaliação da toxicidade das amostras de água, através do Sistema Microtox<sup>®</sup>, indicou a toxicidade das amostras dos microcosmos-tratamento até 85 dias de tratamento. Em t=135 dias, essa toxicidade foi abatida.
- A avaliação da toxicidade dos sedimentos totais foi bem respondida pelos testes de toxicidade com o organismo *C. xanthus*. Os testes mostraram que os sedimentos tratados com nitrato deixaram de ser tóxicos ao organismo-teste após 85 dias de tratamento.
- A retenção do fósforo nos sedimentos após intervenção com nitrato de cálcio não foi eficiente como o esperado. No entanto, postula-se que apenas esse dado não exclui a possibilidade de utilização desta tecnologia em particular como intervenção dos sedimentos da Represa Ibirité. Portanto, decisões sobre a utilização do nitrato como tecnologia de tratamento dos sedimentos da Represa Ibirité poderão ser amparadas, de forma mais abrangente, após estudo detalhado da biogeoquímica dos sedimentos da represa, bem como, após estudos pilotos para a área de estudo em questão.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT, 2004. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Cladocera, Crustacea) (NBR 12713). Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, RJ.
- ABNT, 2005. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp.* (Crustacea, Cladocera) (NBR 13343). Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, RJ.
- ABRANTE, N.; GONÇALVES, F., 2003. The dynamics of *Ceriodaphnia pulchella* (Cladocera) in laboratory. *Acta Oecologica*, 24: 245-249.
- ACTON, D.W.; BARKER, J.F., 1992. In situ biodegradation of aromatic hydrocarbons in anaerobic groundwaters. *Journal of Contaminant Hydrology*, 9: 325-352.
- ADAMS, W.J., 1995. Aquatic testing Methods. IN: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A.J (eds.). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers: CRC Press, Florida, USA. 755p.
- ALLEN, H.E.; FU, G.; DENG, B., 1993. Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for estimation of potencial toxicity in aquatic sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1441.
- ALMEIDA, C.A., 2002. Estudo ecotoxicológica do sedimento da represa do Rio Tietê com organismo-teste bentônico: *Chironomus xanthus* Rempel (Insecta: Diptera). Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- ALMEIDA, C.A., 2007. Aspectos do ciclo de vida de espécies bentônicas nativas e sua utilização na avaliação da qualidade de sedimentos de lagos naturais e reservatórios. Tese de Doutorado, Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

- AMORIM, L.C.A., 2003. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 6(1): 1-13.
- ANDERSEN, J.M., 1982. Effect of nitrate concentration in lake water on phosphate release from the sediment. *Water Research*, 16: 1119-1126.
- ANDERSEN, H.B.; BUCKLEY, J.A., 1998. Acute toxicity of ammonia to *Ceriodaphnia dubia* and a procedure to improve control survival. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61:116-122.
- ANDERSON, D.W., 1998. Evaluation and impact of multiple stressors on ecosystems: four classic cases histories. IN: CECH, J.J.; WILSON B.W.; GROSBY, D.G. (eds.) *Multiple Stresses in Ecosystems*. Lewis Publishers: CRC Press, Florida, USA. 202p.
- APHA, 1992. Standard methods: for examination of water and wastewater. 18th ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- ARAGÃO, M.A.; ARÚJO, R.P.A., 2006. Métodos de ensaio de toxicidade com organismos aquáticos. IN: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (eds). *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. Rima Editora, São Carlos, SP.464p.
- ARAÚJO, R.P.A; SHIMIZU, G.Y.; ALMEIDA, C.A. ; ROCHA, O., 2006a. Testes com invertebrados para avaliar a toxicidade de contaminantes associados ao sedimento de ecossistemas de água doce. IN: *Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce*. Editora Cubo, São Carlos, SP. 224p.
- ARAÚJO, R.P.A.; BOTTA-PASCHOAL, C.M.R.; SILVÉRIO, P.F.; ALMEIDA, F.V.; RODRIGUES, P.F.; UMBUZEIRO, G.U.; JARDIM, W.F.; MOZETO, A.A., 2006. Application of toxicity identification evaluation to sediment in a highly contaminated water reservoir in southeastern Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 581-588.

- AZEVEDO-NETO, J.M. 1988. Novos conceitos sobre eutrofização. *Revista DAE*. 48 (151): 22-28.
- AZEVEDO, S.M.F.O., 2009. Avaliação de processos alternativos para manejo de florações de cianobactérias e cianotoxinas em ambientes aquáticos. Relatório 2. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ. 49p.
- BABIN, J.; KAU, P.; CHAN, L., 2003. In situ sediment treatment to control odours and enhance biological breakdown of organic matter in Shing Mun River, the Hong Kong special administration region. 2nd International Symposium on Contaminated Sediments. Quebec City, Canada.
- BAIRD, C., 2005. *Química ambiental*. Bookman, Porto Alegre, RS. 622p.
- BARBOSA, F.A.R. 2003. Projeto Ibirité. Padrões de estratificação térmica/química e suas implicações para a estrutura da comunidade bentônica, qualidade da água e conservação da Represa de Ibirité - REGAP/Petrobrás, MG. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG. 64p.
- BARBOSA, F.A.R. 2008. Qualidade ambiental das sub-bacias dos ribeirões Ibirité e Pintados: uma proposta de gestão integrada do reservatório de Ibirité, município de Ibirité- MG. Relatório de andamento de projeto II. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG. 175p.
- BARICA, J., 1992. Sustainable management of urban lakes: a new environmental challenge. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 27 (2): 211-219.
- BAUDIN, J.P.; NUCHO, R., 1992. <sup>60</sup>Co accumulation from sediment and planktonic algae by midge larvae *Chironomus luridus*. *Environmental Pollution*, 76: 333-140.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C.R.; HARPER, J.L., 2006. *Ecology: from individuals to ecosystems*. 4th ed. Balckwell Publishing. United Kingdom, USA. 738p.
- BOESE, B.L.; LEE, H.; SPECHT, D.T.; RANDALL, R.C.; WINSOR, M.H., 1990. Comparison of aqueous and solid-phase uptake for hexachlorobenzene in the

tellinid clam *Macoma nasuta* (Conrad): a mass balance approach. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 221-231.

BOLUDA, R.; QUINTANILLA, J.F.; BONILLA, J.A.; SÁEZ, E.; GAMÓN, M., 2002. Application of the Microtox<sup>®</sup> test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). *Chemosphere*, 46: 355-369.

BOTTA-PASCHOAL, C.M.R., 2002. *Avaliação ecotoxicológica de sedimentos em reservatórios da bacia do Rio Tietê, SP, com ênfase na aplicação do estudo de AIT – Avaliação e Identificação da Toxicidade*. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L.; MIERIWA, J.C.; BARROS, M.T.L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S., 2005. *Introdução a engenharia ambiental: o desafio do desenvolvimento sustentável*. 2ª ed. Prentice Hall. São Paulo, SP. 305p.

BROUWER, H.; MURPHY, T.; MCARCLE, L., 1990. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 1353-1358.

BURTON, G.A, Jr., 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 10: 1585-1627.

BURTON, G.A, Jr., 2002. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology*, 3:65-75.

BURTON, G.A.Jr.; MACPHERSON, C., 1995. Sediment toxicity testing issues and methods. IN: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A.J (eds.). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers: CRC Press. Florida, USA. 755p.

CAMARGO, J.A.; ALONSO, A., 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environmental International*, 32: 831-849.



- CAMARGO, J.A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A., 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review for freshwater invertebrates. *Chemosphere*, 58: 1255-1267.
- CAMARGO, M.M. P.; MARTINEZ, C.B.R., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5(3): 327-336.
- CARPENTER, S.R.; BOLGRIEN, D.; LATHROP, R.C.; STOW, C.A.; REED, T.; WILSON, M.A., 1998a. Ecological and economic analysis of lake eutrophication by nonpoint pollution. *Australian Journal of Ecology*. 23: 68-79.
- CARPENTER, S.R.; CARACO, N.F.; CORRELL, D.L.; HOWARTH, R.W.; SHARPLEY, A.N.; SMITH, V.H., 1998b. Nonpoint pollution of surface water with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*. 8(3): 559-568.
- CARPENTER, S.R.; LATHROP, R.C., 1999. Lake restoration: capabilities and needs. *Hydrobiologia*. 395/396: 19-28.
- CASTRO, I.B.; MEIRELLES, C.A.O.; MATTHEWS-CASCON, H.; ROCHA-BARREIRA, C.A.; PENCHASZADEH, P.; BIGATTI, G., 2008. Imposex in endemic volutid from Northeast Brazil (Mollusca: Gastropoda). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51(5): 1065-1069.
- CENPES/PDEDS/BTA, 2008. Caracterização microbiológica parcial do sedimento da lagoa de Ibirité (Ponto amostral 2, MG.) CENPES, Rio de Janeiro, RJ. 10p.
- CETESB, 2001 (São Paulo). L5.277: Teste de toxicidade aguda com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*.
- CLÉMENT, B.; CADIER, C., 1998. Development of a new laboratory freshwater/sediment microcosm test. *Ecotoxicology*, 7: 279-290.
- CLÉMENT, B.; DEVAUX, A.; PERRODIN, Y.; DANJEAN, M.; GHIDINI-FATUS, M., 2004. Assessment of sediment ecotoxicity and genotoxicity in freshwater laboratory microcosms. *Ecotoxicology*, 12: 323-333.

- COELHO, R.S., 2006. Avaliação da toxicidade de fluidos de usinagem através da ecotoxicologia aquática. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- COOKE, G.D.; WELCH, E.B.; PETERSON, S.A.; NEWROTH, P.R., 1993 *Restoration and Management of Lakes and Reservoirs*. Lewis Publishers: CRC Press, Florida, USA. 564p.
- COOPER, D.G.; MORSE, J.W., 1998. Extractability of metal sulfide minerals in acidic solutions: application to environmental studies of trace metal contamination within anoxic sediments. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1076-78.
- COOPER, D.G.; MORSE, J.W., 1999. Selective extraction chemistry of toxic metal sulfides from sediments. *Aquatic Geochemistry* 5: 87-97.
- COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E.L.G., 2008. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, 31(7): 1820– 1830.
- DE ZWART, D.; SLOOFF, W., 1983. The Microtox as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants. *Aquatic Toxicology*, 4: 129-138.
- DI TORO, D.M.; MAHONY, J.D.; HANSEN, D.J.; SCOTT, K.J.; HICKS, M.B.; MAYR, S.M.; REDMOND, M.S., 1990. Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology Chemistry*, 11: 1487–1502.
- DORNFELD, C.B., 2006. Utilização de *Chironomus* sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação de qualidade de sedimentos e contaminação por metais. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- FAITHFULL, C.L.; HAMILTON D.O.; BURGER, D.F. & DUGGAN, I., 2005. Waikato Peat Lakes Sediment Nutrient Removal Scoping Exercise. *CBER Contract Report No. 78*. Environment Waikato Technical Report.
- FONSECA, A.L., 1991. *A biologia das espécies Daphnia laevis, Ceriodaphnia Silvestrii (Crustacea, Cladocera) e Poecilia reticulada (Pisces, Poeciliidae) e o*

*comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais*. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

FONSECA, A.L., 1997. *Avaliação da qualidade de água na bacia do Rio Piracicaba/ SP através de testes de toxicidade com invertebrados*. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

FOY, R.H., 1986. Suppression of phosphorous release from lake sediments by the addition of nitrate. *Water Research*, 20 (11): 1345-1351.

GIESY, J.P.; GRANEY, J.L.; NEWSTED, C.J.; ROSIU, A.; BENDA, R.G.; KRIES, JR.,T.; HORVATH, F.J., 1988. Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit river sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7: 483-498.

GOLDER ASSOCIATES, 2003. Limnofix in-situ sediment treatment technology. Disponível em <<http://www.golder.com/archive/limnofixweb.pdf>> Acesso: 07 de janeiro de 2009.

GUZELLA, L., 1998. Comparison of test procedures for sediment toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* bacteria. *Chemosphere*, 37: 2895-2909.

GYEDU-ABABIO, T.K.; BAIRD, D., 2006. Response of meiofauna and nematode communities to increase levels of contaminants in a laboratory microcosm experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 443-450.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V., 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, 11: 714-719. Correção (1978), 12: 417.

HANSEN, D.J.; BERRY, W.J.; MAHONY, J.D.; BOOTHMAN, W.S.; DI TORO, D.M.; ROBSON, D.L.; ANKLEY, G.T.; YAN, D.Ma.Q.; PESCH, C.E., 1996. Predicting the toxicity of metal-contaminated field sediments using interstitial

concentrations of metal and acid volatile sulfide normalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 2080-2094.

HARRIS, D. C. 1999. *Quantitative Chemical Analysis*. 15<sup>a</sup> ed. W. H. Freeman and Company, New York. 126 p.

HOCKETT, J.R.; MOUNT, D.R., 1996. Use of metal chelating agents to differentiate among sources of acute aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 1687-1693.

HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.; BURTON, G.A. & CAIRNS, J., 1995. Introduction. IN: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.; BURTON, G.A. & CAIRNS, J. (eds). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers, USA. 755p.

HUSZAR, V.L.M.; BICUDO, D.C.; GIANI, A.; FERRAGUT, G.; MARTINELLI, L.A.; HENRY, R., 2005. Subsídios para compreensão sobre a limitação de nutrientes ao crescimento do fitoplâncton e do perifíton em ecossistemas continentais lênticos do Brasil. IN: ROLAND, F.; CESAR, D.; MARINHO, M. (ed.) *Lições de limnologia*. Editora Rima, São Carlos, SP. 517p.

ISO, 1998a. Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 1: method using freshly prepared bacteria (ISO 11348-1).

ISO, 1998b. Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 2: method using liquid-dried bacteria (ISO 11348-2).

ISO, 1998c. Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 3: method using freeze-dried bacteria (ISO 11348-3).

JANSSENS DE BISTHOVEN, L.; VERMEULEN, A.; OLLEVIER, F., 1998. Experimental induction of morphological deformities in *Chironomus riparius* larvae by chronic exposure to copper and lead. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, 35: 349-356.

- JONSSON, C.M.; FERRACINI, V.L.; PARAÍBA, L.C.; RANGEL, M.; AGUIAR, S.R., 2002. Alterações bioquímicas e acúmulo em pacus (*Metynnis argenteus*) expostos ao paclobutrazol. *Scientia Agricola* (Piracicaba, Braz.) 59(3): 441-446.
- KAISER, K.L.E.; MCKINNON, M.B.; FORT, F.L., 1994. Interspecies toxicity correlations of rat, mouse and *Photobacterium phosphoreum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13: 1599-1606.
- KAISER, K.L.E.; PALABRICA, V.S., 1991. *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 26 (3):363-431.
- KAISER, K.L.E., 1998. Correlations of *Vibrio fischeri* bacteria test data with bioassay data for other organisms. *Environmental Health Perspectives Supplements*, 106 (2): 583-591.
- KLAPPER, H., 1991. Control of eutrophication in inland waters. IN: Ellis Horwood Series in Water and Wastewater Technology, Ellis Horwood, Chichester.
- LASIER, P.J.; WINGER, P.V.; BOGENRIEDER, K.J., 2000. Toxicity of manganese to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyaella azteca*. *Archives of Environmentas Contamination and Toxicology*, 38: 298-304.
- LEONARD, E.N.; ANKLEY, G.T.; HOKE, R.A., 1996. Evaluation of metals in marine and freshwater superficial sediments from Environmental Monitoring and Assessment Program relative to proposed sediment quality criteria for metals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(12): 2221-2232.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M. 2006 Brockbiology of microorganisms. 11<sup>th</sup> ed. Person Education Inc, New York, USA. 992p.
- MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.L., 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecologia Brasiliensia*, 12 (3): 355-381.
- MAIER, R.M; PEPPER, I.L.; GERBA, C.P., 2000. *Environmental Microbiology*. Academic Press. Orlando, Florida. 598p

- MANAHAN, S.E., 1984. *Environmental Chemistry*. 4th ed. PWS Publishers, Monterey, California. 612p.
- MARSDEN, M.W., 1989. Lake restoration by reducing external phosphorus loading: the influence of sediment phosphorus release. *Freshwater Biology*, vol. 21, p. 139-162.
- MASUTTI, M. B., 2004. *Distribuição de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e "in situ"*. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, SP.
- MELÃO, M.G.G., 1997. A comunidade planctônica (fitoplâncton e zooplâncton) e produtividade secundária do zooplankton de um reservatório oligotrófico. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- MCAULIFFE, T.F.; LUKATELICH, R.J.; MCCOMB, A.J.; QIU, S., 1998. Nitrate applications to control phosphorous release from sediments of a shallow eutrophic estuary: an experimental evaluation. *Marine Freshwater Research*, 49: 463-473.
- MCCAFFERTY, W.P., 1983. *Aquatic Entomology*. Jones and Bartlett Publishers, Inc., Portola Valley, California, 447p.
- MCCREADY, S.; BIRCH, G.F.; LONG, E.R.; SPYRAKIS, G.; GREELY, C.R., 2006. Relationships between toxicity and concentrations of chemical contaminants in sediments from Sydney Harbour, Australia, and vicinity. *Environmental Monitoring and Assessment*, 120: 187-220.
- MCINTOSH, J., 2007. Phoslock Application – Lake Okareka Final Report. Environment Bay of Plenty/ Environmental Publication, Whakatane, New Zealand.
- MOZETO, A.A.; SILVERIO, P.F.; SOARES, A. 2001. Estimates of benthic fluxes of nutrients across the sediment-water interface (Guarapiranga reservoir, São Paulo, Brazil). *The Science of the Total Environment*, 266: 135-142.

- MOZETO, A.A., 2003. Projeto Ibirité – Relatório N°6 – Relatório Final. Parte I: Biodisponibilidade e toxicidade de contaminantes da represa do Ibirité. Parte II: Origem e geocronologia de sedimentos da represa do Ibirité (MG). Laboratório de Biogeoquímica Ambiental. DQ-UFSCar. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 116 p.
- MOZETO, A.A. 2004. Projeto Ibirité – Aditivos de Recursos. Determinação da batimetria da represa Ibirité e da vazão e cargas de nutrientes e metais/metaloídes dos cursos d'água afluentes-REGAP/Petrobras. Laboratório de Biogeoquímica Ambiental. DQ-UFSCar. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 50p.
- MOZETO, A.A., 2008. Projeto Ibirité, Fase II – Relatório nº 2 – Confirmação de Diagnóstico Ambiental da Represa Ibirité Laboratório de Biogeoquímica Ambiental. DQ-UFSCar. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 87p.
- MOZETO, A.A.; YAMADA, T.M.; JANKE, H.; NASCIMENTO, M.R.L.; RIETZLER, A.; BOTTA, C.; FONSECA, A.; ZANETTE, C.; FARIA, B.; PLATTE, E., 2008. Contaminated sediment assessment and remediation: a case study of the Ibirité Dam (Minas Gerais, Brazil). 5th SETAC World Congress. Sydney, Australia.
- MUNKITTRICK, K.R.; POWER, E.A.; SERGY, G.A., 1991. The relative sensitivity of Microtox, daphnid, rainbow trout, and fathead minnow acute lethality tests. *Toxic Assess*, 6: 35-62.
- MURPHY, T. MOLLER, A.; BROUWER, H., 1995. *In situ* treatment of Hamilton Harbour sediment. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 4: 195-203.
- MURPHY, T.P.; LAWSON, A.; KUMAGAI, M.; BABIN, J., 1999. Review of emerging issues in sediment treatment. *Journal of Aquatic Ecosystem Health and Management*, 2: 419-434.
- NASCIMENTO, M.R.L., 2003. *Proposição de Valores de Referência para Concentração de Metais e Metalóides em Sedimentos Límnicos e Fluviais da Bacia Hidrográfica do Rio Tietê, SP*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 120p.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992. *Restoration of aquatic ecosystems*. National Academic Press. Washington, D.C. 552p.
- PAMPLIN, P.A.Z., 1999. Avaliação da qualidade ambiental da represa de Americana (SP – Brasil) com ênfase na comunidade de macroinvertebrados bentônicos e parâmetros ecotoxicológicos. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- PARRY, R. 1998. Agricultural phosphorus and water quality: a U.S. Environmental Protection Agency perspective. *Journal of Environmental Quality*, 27 (2): 258-261.
- PASCOE, D.; WILLIAMS, K.A.; GREEN, W.J., 1989. Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen – effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiologia*, 175: 109-115.
- PELOSI, S.; FRANCHI, M., 2003. Avaliação das condições ambientais da Lagoa de Verano, no sul da Itália. *Química Nova*, 26(6): 789-794.
- PETZOLD, T.; UHLMANN, D., 2006. Nitrogen emissions into freshwater ecosystems: is there a need for nitrate elimination in all wastewater treatment plants? *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 34: 305-324.
- POMPÊO, M. 2008. Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. *Oecologia Brasiliensis*, 12 (3): 406-424.
- POWER, S.E.A.; CHAPMAN, P.M. 1992. Assessing sediment quality. In BURTON, Jr., G.A. (ed). *Sediment toxicity assessment*. Boca Raton: Lewis Publishers, Chelsea, USA. 457p.
- PORTELA, C.M.S.; ARENZON A.; RAYA-RODRIGUEZ M.T, 2006. Avaliação ecotoxicológica do sedimento do Arroio Sapucaia, RS, Brasil, através de ensaios de toxicidade utilizando diferentes amostradores e organismos-teste. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, 1 (2):119-122.



- RAND, G.M.; WELLS, P.G.; MCCARTY, L.S., 1995. Introduction to aquatic toxicology. IN: RAND, G.M. (ed.) *Fundamentals of aquatic toxicology - effects, environmental fate and risk assessment*. Taylor ; Francis, Washington, D.C. p.
- RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R., 1985. *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. Hemisphere Publishing, Washington, USA. 666p.
- REBOUÇAS, A.C., 1999. Água doce no mundo e no Brasil. IN: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. (eds.). *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. Escrituras Editora, São Paulo, SP. 717p.
- RICKLEFS, R.E., 2001. A economia da natureza. 5th ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, RJ. 503p.
- RIETZLER, A.C., 1998. Tempo de desenvolvimento, reprodução e longevidade de *Diaphanosoma birgei* Korinek e *Ceriodaphnia silvestrii* Daday em condições naturais e alimentação. *VII Seminário Regional de Ecologia*, 3: 1159-1172.
- R IPL, W., 1976. Biochemical oxidation of polluted lake sediment with nitrate – A new lake restoration method. *Ambio*, 5 (3): 132-135.
- ROBB, M.; GREENOP, B.; GOSS, Z.; DOUGLAS, G.; ADENEY, J., 2003. Application of Phoslock™, an innovative phosphorus binding clay, to two Western Australian waterways: preliminary findings. *Hydrobiologia*, 494: 237-243
- ROCHA, O.; MATSUMURA-TUNDISI, T., 1990. Growth rate, longevity and reproductive performance of *Daphnia laevis* Birge, *D. gessneri* Herbst and *D. ambigua* Scourfield in laboratory cultures. *Revista Brasileira de Biologia*, 50: 915-921.
- RODRIGUES, P.F., 2006. Teste de toxicidade aguda com a bactéria luminescente – *Vibrio fischeri*. IN: MOZETO, A.A.; UMBUZEIRO, G.A.; JARDIM, W.F. *Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce*. Editora Cubo, São Carlos, SP. 224p.

- RODRIGUES, P.F.; UMBUZEIRO, G.A., 2004. O teste da toxicidade aguda com bactérias luminescentes e o controle da poluição das águas. *O mundo da saúde*, 28 (4): 444-449.
- SANTOS, R.M.S; SANTOS, M.F.; COSTA, M.F.D., 1993. Quimiluminescência e bioluminescência. *Química Nova*, 16(3): 200-209.
- SCHAEFER, A.L.; HANZELKA, B.L; EBERHARD, A.; GREENBERG, E.P., 1996. Quorum Sensing in *Vibrio fischeri*: Probing Autoinducer-LuxR Interactions with Autoinducer Analogs. *Journal of Bacteriology*, 178: 2897-2901.
- SCHAUSER, I.; CHORUS, I.; LEWANDOWSKI, J., 2006. Effects of nitrate on phosphorus release: comparison of two Berlin lakes. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 34: 325-332.
- SCHOLTEN, M.C.TH.; FOEKEMA, E.M.; VAN DOKKUM, H.P; KAAG, N.H.B.M.; JAK, R.G., 2005. *Eutrophication management and ecotoxicology*. Springer. Berlin, Germany. 122p.
- SCOTT, G.; CRUNKILTON, R.L., 2000. Acute and chronic toxicity of nitrate to fathead minnows (*Pimephales promelas*), *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 2918-2922.
- SEDNET, 2004. European Sediment Research Network: Contaminated Sediments in European River Basins. Final Draft. Disponível em <<http://www.sednet.org>> Acesso: 05 de junho de 2008.
- SMELTZER, E.; KIRN, R.A.; FISKE, S., 1999. Long-tem water quality and biological effects alum treatment of Lake Morey, Vermont. *Journal of Lake and Reservoir Management*, 15(3): 173-184.
- SOARES, A.; MOZETO, A.A. 2006. Water quality in the Tietê River Reservoirs (Billings, Barra Bonita, Bariri and Promissão, SP-Brazil) and nutrient fluxes across the sediment-water Interface (Barra Bonita). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 18(3): 247-266.

- SONDERGAARD, M.; JEPPESEN, E.; JENSEN, J.P., 2000. Hypolimnetic nitrate treatment to reduce internal phosphorus loading in a stratified lake. *Lake and Reservoir Management*, 16: 195-204.
- SOUCEK, D.J.; KENNEDY, J., 2005. Effects of hardness, chloride, and acclimation on the acute toxicity of sulfate to freshwater invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 1204-1210.
- STEVENS, A.M.; GREENBERG, E.P., 1997. Quorum Sensing in *Vibrio fischeri*: Essential Elements for Activation of the Luminescence Genes. *Journal of Bacteriology*, 179: 557-562,
- STUMM, W.; MORGAN, J.J. 1996. *Aquatic Chemistry*. 3th ed. Wiley-Interscience. New York, USA. 1022p.
- TRAUNSPURGER, W.; DREWS, C., 1996. Toxicity analyses of freshwater and marine sediments with meio- and macrobenthic organisms: a review. *Hydrobiologia*, 328: 215-261.
- TRIFFAULT-BOUCHET, G.; CLÉMENT, B.; BLAKE, G., 2005. Assessment of contaminated sediments with an indoor freshwater/sediment microcosm assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 2243-2253.
- TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G., 1982. Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* Strixino ; Strixino (Diptera, Chironomidae) *Revista Brasileira Entomologia*, 26(2): 183-189.
- TSIRIDIS, V.; PETALA, M.; SAMARAS, P.; HADJISPYROU, S.; SAKELLAROPOULOS, G.; KUNGOLOS, A., 2006. Interactive toxic effects of heavy metals and humic acids on *Vibrio fischeri*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(1):158–167.
- TUNDISI, J.G.; TUNDISI, T.M., 2008. *Limnologia*. Oficina de Textos. São Paulo, SP. 631p.

- USEPA, 1992. Sediment classification methods compendium. United States Environmental Protection Agency/ Sediment Oversight Technical Committee, Washington, DC., USA.
- USEPA, 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediments associated with freshwater invertebrates (EPA/600/R-94-024), United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- USEPA, 1996. Acid Digestion of Sediments, Sludges and soil – Method 3050B, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- USEPA, 1999. Update of ambient water quality criteria for ammonia. (EPA/822/R-99-014). United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- USEPA, 2000. Equilibrium partitioning sediments guidelines (ESGs) for the protection of benthic organisms: metal mixtures (cadmium, copper, lead, nickel, silver and zinc). (EPA/822/R00/005). United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- USEPA, 2002a. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. (EPA/821/R-02-012). United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- USEPA, 2002b. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. (EPA/821/R-02-013). United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- VACCARI, D.A.; STROM, P.F.; ALLEMAN, J.E., 2006. *Environmental Biology for Engineers and Scientists*. Wiley-Interscience. New York, U.S.A. 931p.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacologic*, 13: 57-149.
- VAN RIJN, JAAP; TAL, Y; SCHREIER, H.J, 2006. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. *Aquacultural Engineering*, 34: 364-376.

- WAUER, G.; GONSIORZYK, T.; CASPES, P.; KOSCHEL, R., 2005a. Sediment treatment with a nitrate-storing compound to reduce phosphorus release. *Water Research*, 39: 494-500.
- WAUER, G.; GONSIORZYK, T.; CASPES, P. & KOSCHEL, R., 2005b. P-immobilisation and phosphatase activities in lake sediment following treatment with nitrate and iron. *Limnologica*, 35: 102-108.
- WEHRLI, B; VENTLING, A.; MÜLLER, R., 1993. Biogeochemical processes at the sediment surface. *EAWAG- News*, 34: 17-20.
- WETZEL, R.G., 2001. *Limnology*. 3th ed. Elsevier. Academic Press. San Diego, Califórnia, USA. 1006p.
- YAMADA, T.M., 2006. *Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e alifáticos em sedimentos de ambientes aquáticos*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, SP.
- YAMADA, T.M., 2009. Avaliação da qualidade e remediação de sedimentos da Represa Ibirité (REGAP-Petrobras). Tese de doutorado, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, SP. *Em andamento*.
- ZAGATTO, P.A., 2006a. Validação de testes de toxicidade com organismos aquáticos. IN: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (eds). *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. Rima Editora, São Carlos, SP.
- ZAGATTO, P.A., 2006b. Avaliação de risco e do potencial de periculosidade ambiental de agentes químicos para o ambiente aquático. IN: ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. (eds). *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. Rima Editora, São Carlos, SP. 464p.
- ZHAO, I.; WANG, L.; GAO, H.; ZHANG, Z., 1993. Quantitative structure-activity relationships. Relationship between toxicity of organic chemicals to fish and to *Photobacterium phosphoerum*. *Chemosphere*, 26: 1971-1979.
- ZORATTO, A.C., 2007. Avaliação ecotoxicológica de compostos naturais produzidos por *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* no Vale do Rio Doce, Minas

Gerais. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos,  
Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

## **ANEXOS**

---

## ANEXO 1

TABELA 10. Concentração efetiva mediana CE50;48h (g L<sup>-1</sup>) obtida em testes de sensibilidade a cloreto de sódio para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Data	CE50;48h	Intervalo de confiança	Faixa de sensibilidade CE50;48h*
Novembro/ 2008	1,52	1,34 – 1,68	
Janeiro/ 2009	1,00	-	0,91 – 1,71
Fevereiro/ 2009	1,71	1,67 – 1,92	
Abril/ 2009	1,54	1,44 – 1,66	

(Carta controle fornecida por Laboratório de Ecotoxicologia – CRHEA/USP)

TABELA 11. Concentração efetiva mediana CE50;96h (g L<sup>-1</sup>) obtida em testes de sensibilidade a cloreto de potássio para *Chironomus xanthus*.

Data	CE50;96h	Intervalo de confiança	Faixa de sensibilidade CE50;96h*
Novembro/ 2008	3,17	2,76 – 3,64	
Janeiro/ 2009	4,43	3,95 – 4,99	3,15 – 6,36 g L <sup>-1</sup>
Abril/ 2009	3,04	2,66 – 3,49	

(Carta controle fornecida pelo Laboratório de Ecotoxicologia – CRHEA/USP)

TABELA 12. Concentração efetiva mediana CE50;15' (mg L<sup>-1</sup>) obtida em testes de sensibilidade a sulfato de zinco para *Vibrio fischeri*.

Data	CE50;15'	CE50;15' referência*
Novembro/ 2008	3,2	
Dezembro/ 2008	3,6	
Janeiro/ 2009	4,2	3,0 – 10,0 mg L <sup>-1</sup>
Março/ 2009	4,37	
Abril/ 2009	3,22	

(CETESB, 2001)



## ANEXO 2

TABELA 13. Limites de detecção dos métodos utilizados na determinação de nutrientes nas amostras de água e de sulfeto para SVA ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Nutrientes	Limite de Detecção
Nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ )	0,063
Nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ )	0,002
Amônia ( $\text{NH}_3$ )	0,046
Ortofosfato	0,084
Sulfeto	0,01
Sulfato	0,42

TABELA 14. Limites de quantificação e métodos analíticos utilizados na determinação de metais nas amostras de água ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Analito	Método Analítico <sup>1</sup>	Limite de Quantificação
Al	ICP-OES	0,1
Cu	GF-AAS	0,004
Fe	ICP-OES	0,05
Mn	ICP-OES	0,02
Ni	GF-AAS	0,005
Pb	GF-AAS	0,001
Zn	ICP-OES	0,02

<sup>1</sup>Métodos:

ICP-OES: Espectrometria de Emissão por Plasma Acoplado Indutivamente

GF-AAS: Espectrofotometria de Absorção Atômica com forno de Grafite

TABELA 15. Limites de quantificação e métodos analíticos utilizados na determinação de metais nas amostras de sedimento ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Analito	Método Analítico <sup>1</sup>	Limite de Quantificação
Al	ICP-OES	5
Cu	ICP-OES	1
Fe	ICP-OES	2,5
Mn	ICP-OES	1
Ni	ICP-OES	5
Pb	ICP-OES	10
Zn	ICP-OES	1

*Nota: Os limites de quantificação de sedimento dependem da alíquota submetida a análise e de eventuais diluições. Considerou-se a massa de 2,000 g de sedimento seco para um volume de solução da amostra de 100 mL.*

<sup>1</sup>Métodos:

ICP-OES: Espectrometria de Emissão por Plasma Acoplado Indutivamente

HG-AAS: Espectrofotometria de Absorção Atômica com Gerador de Hidretos

GF-AAS: Espectrofotometria de Absorção Atômica com forno de Grafite

TABELA 16. Limites de quantificação utilizados na determinação de MES das amostras de sedimento ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

<b>MES</b>	<b>Método Analítico<sup>1</sup></b>	<b>Limite de Quantificação</b>
Cd	ICP-OES	4,75
Cu	ICP-OES	4,75
Pb	ICP-OES	47,51
Ni	ICP-OES	23,75
Zn	ICP-OES	4,75

*Nota: Considerou-se a massa média de sedimento seco de 0,000421kg para um volume de solução da amostra de 100 mL.*

<sup>1</sup>Método:

ICP-OES: Espectrometria de Emissão por Plasma Acoplado Indutivamente

### ANEXO 3

TABELA 17. CE50; 48h (%) para *Ceriodaphnia silvestrii* das amostras de água de interface sedimento-água em cada réplica dos microcosmos-tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	Réplica	CE50; 48h	Intervalo de confiança	CE50; 48h média	dp*
t=10	1	66,49	55,56 - 79,57	62,81	2,61
	2	60,88	50,49 - 73,41		
	3	61,05	51,66 - 72,14		
t=50	1	20,88	15,27 - 28,54	20,68	1,73
	2	18,46	14,46 - 23,57		
	3	22,69	17,44 - 29,52		
t=85	1	14,98	11,04 - 20,32	17,19	2,93
	2	16,08	12,32 - 20,99		
	3	20,51	16,27 - 25,86		
t=135	1	36,55	29,58 - 45,17	20,68	1,73
	2	56,80	42,77 - 75,44		
	3	36,55	29,58 - 45,17		

dp: desvio-padrão

TABELA 18. CE50; 48h (%) para *Ceriodaphnia silvestrii* das amostras de água intersticial dos sedimentos em cada réplica dos microcosmos-tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	Réplica	CE50; 48h	Intervalo de confiança	CE50; 48h média	dp*
t=0	1	<12,5	-	-	-
	2	<12,5	-		
	3	<12,5	-		
t=5	1	4,42	3,18 - 6,14	5,01	0,46
	2	5,55	4,57 - 6,73		
	3	5,07	4,36 - 5,9		
t=10	1	4,63	3,8 - 5,64	4,98	0,53
	2	4,59	3,65 - 5,77		
	3	5,73	4,87 - 6,74		
t=50	1	<2,5	-	-	-
	2	<2,5	-		
	3	<2,5	-		
t=85	-	3,46	2,39 - 5,03	2,66	0,97
	-	2,92	2,08 - 4,10		
	-	1,58	1,31 - 1,9		
t=135	-	60,08	38,72 - 93,24	66,11	5,45
	-	70,71	55,34 - 90,35		
	-	67,52	42,81 - 106,51		

dp: desvio-padrão

## ANEXO 4

TABELA 19. Valores de amônia não ionizada (NH<sub>3</sub>) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	NH <sub>3</sub> (mg/L)			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	1,010	-	-	-
	t=0	2,120	2,190	0,061	0,028
	t=5	2,800	3,667	0,289	0,079
	t=10	2,000	7,000	1,000	0,143
	t=25	0,490	4,667	0,764	0,164
	t=50	<0,046	5,667	1,443	0,255
	t=85	<0,046	3,400	0,361	0,106
	t=135	0,070	1,87	1,504	0,806
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	21,500	-	-	-
	t=0	22,000	44,667	0,577	0,013
	t=5	15,000	30,333	0,577	0,019
	t=10	15,000	24,333	1,155	0,047
	t=25	6,000	13,667	1,528	0,112
	t=50	<0,046	10,667	1,155	0,108
	t=85	<0,046	7,00	1,00	0,143
	t=135	<0,046	4,000	1,000	0,25

\*dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação

TABELA 20. Valores de nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	0,0185			
	t=0	0,027	0,15	0,02	0,104619
	t=5	0,281	0,45	0,18	0,408551
	t=10	<0,002	2,90	0,67	0,231959
	t=25	0,033	5,52	0,69	0,12504
	t=50	<0,002	8,67	0,46	0,053294
	t=85	<0,002	8,8	0,520	0,059047
	t=135	<0,002	0,06	0,02	0,259947
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	0,0673			
	t=0	0,0065	6,27	1,04	0,166
	t=5	<0,002	5,27	0,12	0,022
	t=10	0,05	11,63	1,44	0,124
	t=25	0,028	59,57	2,58	0,043
	t=50	0,6	6,83	0,12	0,017
	t=85	0,01	7,10	1,14	0,160
	t=135	0,009	1,15	0,90	0,776

\*dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação

TABELA 21. Valores de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	0,252	-	-	-
	t=0	<0,063	6,680	1,269	0,190
	t=5	<0,063	22,888	7,221	0,316
	t=10	<0,063	43,933	11,237	0,256
	t=25	<0,063	174,483	40,651	0,233
	t=50	<0,063	171,333	53,219	0,311
	t=85	<0,063	204,533	57,477	0,281
	t=135	0,08	129,942	26,466	0,204
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	<0,063	-	-	-
	t=0	<0,063	1.033,733	382,964	0,370
	t=5	<0,063	1.208,067	201,236	0,167
	t=10	<0,063	988,367	278,572	0,282
	t=25	0,062	607,100	128,582	0,212
	t=50	<0,063	545,800	82,099	0,150
	t=85	0,059	139,57	63,754	0,457
	t=135	0,021	88,85	35,724	0,402

dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação

TABELA 22. Valores de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> (mg/L)			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	62,851	-	-	-
	t=0	65,546	67,225	1,033	0,015
	t=5	78,667	82,260	0,852	0,010
	t=10	84,057	85,830	0,246	0,003
	t=25	91,631	164,208	20,338	0,124
	t=50	99,448	302,207	6,130	0,020
	t=85	127,72	508,87	11,75	0,023
	t=135	126,345	791,402	31,576	0,040
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	119,092	-	-	-
	t=0	124,766	125,783	30,222	0,240
	t=5	92,300	275,333	7,092	0,026
	t=10	83,844	272,969	28,663	0,105
	t=25	120,709	502,600	77,799	0,155
	t=50	87,117	964,598	86,230	0,089
	t=85	87,12	1780,69	78,33	0,0440
	t=135	87,117	1539,310	288,256	0,187

dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação

TABELA 23. Valores de ortofosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	$\text{PO}_4^{-3}$ (mg/L)			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	0,14	-	-	-
	t=0	0,11	0,04	0,052	1,299
	t=5	0,28	0,11	0,017	0,157
	t=10	0,72	0,44	0,030	0,068
	t=25	0,74	0,25	0,025	0,102
	t=50	1,63	0,64	0,090	0,139
	t=85	1,17	0,48	0,031	0,064
	t=135	1,7	0,91	0,13	0,139
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	1,26	-	-	-
	t=0	1,21	1,27	0,195	0,153
	t=5	1,58	1,04	0,133	0,128
	t=10	1,60	1,41	0,146	0,104
	t=25	2,36	1,45	0,121	0,084
	t=50	2,78	1,90	0,153	0,081
	t=85	2,8	1,86	0,203	0,109
	t=135	2,13	1,36	0,164	0,120

TABELA 24. Potencial redox ( $E_H$ ) dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos sedimentos-tratamento para cada tempo de tratamento.

Tempo de tratamento (dias)	$E_H$ (mV)			
	Controle	Tratamento	dp*	cv**
Inicial	-154	-	-	-
t=0	-124	-104,67	2,887	0,0276
t=5	-167	-46,33	5,508	0,1189
t=10	-197	-90,00	1,414	0,0157
t=25	-163	-55,00	2,828	0,0514
t=50	-170	-49,00	16,523	0,3372
t=85	-174,5	-37,00	14,18	0,38317
t=135	-134	138,667	32,716	0,236

\*dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação

TABELA 25. Valores de pH nas águas de interface sedimento-água e águas intersticiais dos sedimentos dos microcosmos-controle e médias dos microcosmos-tratamento.

Amostra	Tempo de tratamento (dias)	pH			
		Controle	Tratamento	dp*	cv**
Água de interface sedimento-água	Inicial	7,24	-	-	-
	t=0	7,36	7,35	0,046	0,0063
	t=5	6,93	7,04	0,025	0,0036
	t=10	6,95	6,51	0,046	0,0070
	t=25	6,51	6,28	0,026	0,0042
	t=50	6,68	6,15	0,015	0,0025
	t=85	6,49	6,13	0,046	0,0075
	t=135	6,63	6,41	0,150	0,0235
Água intersticial dos sedimentos	Inicial	7,01	-	-	-
	t=0	6,87	6,65	0,1498	0,0225
	t=5	6,81	6,57	0,0764	0,0116
	t=10	6,95	6,70	0,0306	0,0046
	t=25	6,80	6,64	0,1626	0,0245
	t=50	6,72	6,83	0,0551	0,0081
	t=85	6,63	6,75	0,1054	0,0156
	t=135	6,82	6,7867	0,0208	0,0031

\*dp: Desvio padrão

\*\*cv: Coeficiente de variação