

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas

Dissertação de mestrado

Contribuição do Modelo do Ligante Biótico (*BLM*)
para o estabelecimento de critério de qualidade de água superficial
para cobre na região de Carajás, PA

Autor: Flávio Dáiro Café de Castro

Orientadora: Profa. Virgínia S.T. Ciminelli
Co-orientador: Dr. Flávio Vasconcelos

Outubro de 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas

Flávio Dáiro Café de Castro

CONTRIBUIÇÃO DO MODELO DO LIGANTE BIÓTICO (*BLM*) PARA O
ESTABELECIMENTO DE CRITÉRIO DE QUALIDADE DE ÁGUA SUPERFICIAL PARA
COBRE NA REGIÃO DE CARAJÁS, PA

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia
Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais

Área de concentração: Tecnologia Mineral

Orientadora: Profa. Virgínia S.T. Ciminelli

Co-orientador: Dr. Flávio Vasconcelos

Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG

2009

Às minhas luzes,
Zezé, Bel e Nina,
pela paciência e incentivo.

AGRADECIMENTOS:

O autor agradece a todos que, direta ou indiretamente, permitiram a realização ou colaboraram na preparação deste trabalho, em especial:

- à Vale, na pessoa de Marco Aurélio Pires, pela permissão e apoio para o desenvolvimento deste estudo
- a Flávio Vasconcelos, que apresentou a idéia e acendeu minha curiosidade
- a Virgínia Ciminelli, que me deu a oportunidade para este novo mergulho no mundo acadêmico
- a Fernando Pantuzzo, que desde muito me incentivou e deu dicas essenciais
- a Cláudia Lima, Júlio Silva e Ilda Batista, pela dedicação e atenção nos trabalhos de laboratório (Hidrometalurgia – DEMET)
- a Vanessa Torres, pelo incentivo e visão estratégica
- a Roberto Albuquerque, Evaldo Silva e equipes técnicas do Sossego e Salobo, pelo apoio “moral” e logístico
- a João Edson (*in memoriam*) e a todas as equipes de campo, sem os quais não haveria coleta de amostras

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	4
CAPÍTULO 3: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Contextualização geológica das áreas de estudo.....	5
3.2 O modelo <i>BLM</i>	7
3.2.1 Relação da acumulação do metal com a toxicidade.....	7
3.2.2 Aprimoramento dos modelos de toxicidade.....	14
3.2.3 Especiação química e o <i>BLM</i>	16
3.2.4 Primeira aplicação do modelo e observações sobre os efeitos dos parâmetros químicos na toxicidade.....	17
3.2.5 Equações de equilíbrio químico do modelo	22
3.3 Versões posteriores do <i>BLM</i>	24
3.4 Observações recentes, especulações e necessidades de desenvolvimento do modelo	26
CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Procedimentos de campo	34
4.2 Procedimentos de laboratório	37
4.3 Ensaio ecotoxicológicos	38
4.3.1 Introdução	38
4.3.2 Organismo-teste.....	39
4.3.3 Método para ensaios de toxicidade aguda	40
4.3.4 Método para ensaios de toxicidade crônica.....	42
4.4 Utilização do modelo <i>BLM</i>	43
CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Parâmetros físico-químicos.....	49
5.2 Avaliação da toxicidade aguda pelo modelo <i>BLM</i>	52
5.3 Avaliação da toxicidade crônica pelo modelo <i>BLM</i>	60
5.4 Aplicação do <i>BLM</i> no contexto regulatório.....	65
5.5 Considerações finais.....	70
CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES	73
CAPÍTULO 7: RELEVÂNCIA DOS RESULTADOS	75

CAPÍTULO 8: SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Província Mineral de Carajás e localização das principais minas/projetos.....	6
Figura 3.2 – Exemplo de teste estático de toxicidade.....	8
Figura 3.3 – Exemplo de curva dosagem-resposta para testes de cobre com <i>C. dubia</i>	9
Figura 3.4 – Exemplo de especiação do Cu em água de rio, pH=7	10
Figura 3.5 – Curva dosagem-resposta para a mortalidade de <i>rainbow trout</i> , como função da acumulação de cobre na guelra.....	12
Figura 3.6 – Representação esquemática do <i>Biotic Ligand Model</i> e as interrelações entre química, fisiologia, toxicologia e regulamentação (Paquin <i>et al.</i> , 2002)	14
Figura 3.7. – Relação da <i>LC50</i> para cobre com variações na concentração de matéria orgânica	18
Figura 3.8 – Relação da <i>LC50</i> para cobre com variações na dureza/concentração de cálcio.....	19
Figura. 3.9 - Relação da <i>LC50</i> para cobre com variações no pH, segundo Erickson <i>et al.</i> , 1996 (Di Toro <i>et al.</i> , 2000).....	21
Figura 3.10 – Comparação da <i>LC50</i> previsto pelo <i>BLM</i> e medido em laboratório, para cobre e prata.....	27
Figura 3.11 – Modelos de carreamento de metais numa célula biológica	30
Figura 3.12 – Modelo conceitual de processos físico-químicos envolvidos no carreamento de metais em organismos aquáticos.....	32
Figura 4.1 – Pontos de amostragem na Mina do Sossego.....	34
Figura 4.2 – Pontos de amostragem no Projeto Salobo	34
Figura 4.3 – Tela de abertura do programa <i>BLM</i>	45
Figura 4.4 – Tela do <i>BLM</i> utilizada para seleção das unidades dos diferentes parâmetros	46
Figura 4.5 – Tela do programa <i>BLM</i> utilizada para seleção do organismo e do elemento.....	46
Figura 5.1 – Medidas de campo de pH, potencial redox - Eh (mV), temperatura (°C) e condutividade elétrica (uS/cm).....	50
Figura 5.2 – Alguns parâmetros químicos medidos em laboratório.....	51

Figura 5.3 – Resultados de toxicidade aguda (laboratório) na segunda e terceira campanhas de campo.....	53
Figura 5.4 – Relação entre resultados previstos (<i>BLM</i>) e medidos para ecotoxicidade aguda de <i>Ceriodaphnia dubia</i>	54
Figura 5.5 – Gráficos de correlação entre os resultados de alguns parâmetros físico-químicos (mg/L) e os resultados de toxicidade aguda medidos – segunda campanha.....	58
Figura 5.6 – Gráficos de correlação entre os resultados de alguns parâmetros físico-químicos (mg/L) e os resultados de toxicidade aguda medidos – terceira campanha	59
Figura 5.7 – Resultados de toxicidade crônica (laboratório) nas três campanhas de campo	60
Figura 5.8 – Relação entre resultados previstos (<i>BLM</i>) e medidos para toxicidade crônica - CI50	62
Figura 5.8A – Detalhe da figura 5.8, na região de maior concentração de pontos.....	63
Figura 5.9 – Comparação entre índices de <i>WQC</i> para toxicidade aguda (segunda campanha).....	67
Figura 5.10 – Comparação entre índices de <i>WQC</i> para toxicidade aguda (terceira campanha).....	67
Figura 5.11 – Comparação entre índices de <i>WQC</i> para toxicidade crônica	69

LISTA DE TABELAS

Tabela IV.1 – Coordenadas dos pontos de coleta de amostras de água	36
--	----

LISTA DE NOTAÇÕES

g/t: grama por tonelada

ppm: parte por milhão

mg/L: miligrama por litro

$\mu\text{g/L}$: micrograma por litro

nmol/g_w : nanomol por grama (*wet weight* – peso líquido)

LC: lethal concentration

LA: lethal accumulation

log: logaritmo

K: constante de estabilidade (equilíbrio)

pK: $-\log K$

ΔpK : faixa de variação do pK

RESUMO

Os objetivos principais deste estudo foram avaliar a eficácia do modelo *BLM* (*Biotic Ligand Model*) na predição de toxicidade aguda e crônica para cobre em corpos hídricos na região de Carajás, Pará, assim como contribuir para o estabelecimento de critérios de qualidade da água para proteção das comunidades aquáticas. O *BLM* é um modelo que considera condições físico-químicas do corpo d'água receptor como parâmetros relevantes na atenuação dos efeitos tóxicos para a biota aquática, relacionados ao recebimento de carga metálica. Considerando a especiação do metal e a interação com outros constituintes da fase aquosa, o modelo simula sua biodisponibilidade e seus efeitos tóxicos sobre os organismos aquáticos. Foram realizadas três campanhas de amostragem, sazonalmente. Em cada campanha foram coletadas amostras de água em três pontos em cada área - Mina do Sossego e Projeto Salobo. Foi feita a caracterização físico-química e toxicológica das amostras de água coletadas nestes pontos. Os resultados toxicológicos medidos em laboratório foram comparados com os resultados previstos pelo modelo. Para toxicidade aguda, o modelo se mostrou robusto porque conseguiu prever a toxicidade do cobre com grande margem de acerto. A análise da correlação entre os parâmetros físico-químicos e a toxicidade mostrou que os fundamentos teóricos e experimentais do modelo também se aplicaram a este estudo, na medida em que os fatores de atenuação da toxicidade realmente contribuíram para a elevação do índice CE50. Para toxicidade crônica, pode-se afirmar que o modelo *BLM* foi capaz de modelar significativa parte dos pontos (2/3), mas não teve sensibilidade suficiente para separar os valores de toxicidade por área e por época (sazonalidade), indicando uma necessidade de maior desenvolvimento e compreensão dos mecanismos que relacionam características físico-químicas, fisiologia e toxicidade. Do ponto de vista regulatório, foram comparados os resultados de três parâmetros de proteção das comunidades aquáticas com o valor máximo permitido (VMP) da norma brasileira (Res. CONAMA 357/2005). Apesar do pequeno número de amostras coletadas em cada área e também do número restrito de campanhas de campo, pode-se dizer que o VMP para cobre em águas Classe 2 mostrou-se consistente para a proteção de comunidades aquáticas na área do Projeto Salobo, mas relativamente conservador para a área da Mina do Sossego, indicando a necessidade de obtenção de critérios específicos por área, desde que baseados em dados ambientais e toxicológicos robustos e confiáveis.

ABSTRACT

The main objectives of this study were evaluate the effectiveness of the *BLM* (Biotic Ligand Model) in predicting acute and chronic copper toxicity for waterbodies in the Carajás region (Pará, Brasil) and contribute to the establishment of water quality criteria for the protection of aquatic communities. *BLM* is a model that considers the aquatic physicochemical properties as relevant parameters for mitigating the toxic effects of metals to aquatic biota. Considering the metal speciation and interactions with other constituents of the aqueous phase, the model simulates the bioavailability and toxic effects on aquatic organisms. Three field surveys were carried out, seasonally. For each field survey water samples were collected at three different points in two areas - Sossego Mine and Salobo Project. Water samples were submitted to physicochemical analysis and toxicological assays (acute and chronic). Measured laboratory toxicological results were compared with predicted results (*BLM*). For acute toxicity the model demonstrated to be robust because it was able to predict the toxicity of copper with high degree of accuracy for the two areas in both field surveys. Correlation between physicochemical parameters and toxicity showed that *BLM's* theoretical and experimental principles were corroborated by these studies considering that the mitigating factors of toxicity really contributed to the EC50 increase. For chronic toxicity *BLM* was able to model a significant number of points (2/3 of total) but didn't have enough sensitivity to separate the toxicity per area and seasons, indicating a need for further development and understanding of the mechanisms linking physical and chemical characteristics, physiology and toxicity. Chronic toxicity results may have been affected by natural toxicity observed in the laboratory, but it was unclear to what extent this fact influenced the final results. From a regulatory point of view the results of three parameters for protection of aquatic communities were compared with the maximum allowed value in the Brazilian legislation (CONAMA Resolution 357/2005). Despite the small number of samples collected in each area and also the limited number of field surveys, it can be said that the maximum allowed value for copper in "Class 2" waterbodies are consistent for the protection of aquatic communities in the area of Salobo Project but relatively conservative in the area of Sossego Mine, indicating the need of obtaining local water quality criteria, based on robust and reliable environmental and toxicological data.

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

Avaliar impactos causados por metais ao meio ambiente não é uma tarefa simples porque esta interação se dá por meio de diferentes espécies químicas em ambientes naturalmente complexos. A avaliação de impactos e a análise de risco ambiental envolvem diversas disciplinas, incluindo química, fisiologia e ecotoxicologia, sendo objeto desta última o estudo da toxicidade de uma substância a animais e plantas.

Um conceito extremamente importante na avaliação de impactos e na análise de risco ambiental é a biodisponibilidade de metais, isto é, a fração de um elemento ou composto que está em uma forma físico-química que pode interagir com um organismo vivo e causar um efeito biológico, isto é, estar disponível para causar uma ação biológica. Nenhum método prático e efetivo foi desenvolvido até então para avaliar diretamente a fração biodisponível de um metal na água e o seu efeito na biota local. O que pode ser medido é o “efeito”, por meio dos ensaios ecotoxicológicos, por exemplo, mas não a “causa”. E se esta “causa” não é totalmente compreendida, fica ainda mais complexa a predição do impacto e a respectiva análise de risco ambiental (Peters, 2003).

Neste contexto é que vêm sendo desenvolvidos os modelos que congregam especiação química e efeito à biota aquática, em especial. Estes são úteis porque fornecem uma estrutura conceitualmente organizada para o entendimento dos processos químicos, fisiológicos e ecotoxicológicos envolvidos, além de uma base quantitativa para a avaliação do efeito gerado pelas várias e complexas interações a serem consideradas nos sistemas ambientais, de forma interdependente. Um dos maiores desafios para o desenvolvimento destes modelos foi o estabelecimento do papel da matéria orgânica dissolvida na especiação química de metais nos corpos receptores. O *BLM (Biotic Ligand Model)*, embora não seja o primeiro destes modelos, é bastante eficiente na representação do papel da matéria orgânica natural na especiação química dos metais. No *BLM*, a conexão entre a exposição dos organismos a um metal e seus efeitos é feita por meio de um *software*, simulando o que ocorreria num bioensaio de laboratório (Di Toro *et al.*, 2000; Di Toro *et al.*, 2001; Santore *et al.*, 2001; Paquin *et al.*, 2002). Sua grande relevância, entretanto, é que as respostas toxicológicas podem ser avaliadas de maneira previsível e sistemática, a partir da coleta de poucos parâmetros (pH, dureza, matéria orgânica e

metais dissolvidos), refletindo tanto a compreensão da química da água como da fisiologia do organismo.

O *BLM* foi desenvolvido inicialmente em diversas partes da América do Norte e da Europa, na década dos anos 90, para toxicidade aguda em larva de peixe fluvial, principalmente para cobre (Playle *et al.*, 1992; Playle *et al.*, 1993a ; Playle *et al.*, 1993b; Campbell, 1995; Janes e Playle, 1995; Hollis *et al.*, 1997; Playle, 1998; Wood *et al.*, 1999; Di Toro *et al.*, 2000, Di Toro *et al.*, 2001, Santore *et al.*, 2001; De Schamphelaere e Jansen, 2002). Na medida em que sua eficácia na predição da ecotoxicidade se mostrava consistente, diversos avanços visando aumentar a abrangência do modelo foram ocorrendo em diferentes partes do mundo, permitindo expandir sua aplicação para outros ambientes (marinho, estuarino, terrestre), outros organismos e outros metais. A versão atualmente disponibilizada gratuitamente na internet considera não somente o cobre, mas também outros metais (Zn, Cd e Ag), bem como diferentes organismos, e não somente larva de peixe fluvial (*Pimephales promelas* - fathead minnow, *Oncorhynchus mykiss* - rainbow trout, *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* – HydroQual, 2007).

Existem poucas referências sobre a utilização do *BLM* no Brasil (Almeida, 2006) e nenhuma sobre sua utilização para cobre no ecossistema amazônico. Considerando que todo o desenvolvimento do modelo foi baseado em dados de ambientes com ecossistemas bastante diferentes daqueles encontrados na Amazônia Oriental brasileira (ex: fauna aquática, vegetação e clima), considera-se que uma das relevâncias deste trabalho seria a contribuição para a avaliação da eficácia da aplicação do *BLM* em ecossistemas da Amazônia brasileira.

Outra contribuição científica importante está relacionada ao desenvolvimento deste modelo para toxicidade crônica. Embora várias contribuições já tenham ocorrido nos últimos anos, existe uma urgente necessidade de se ampliar as pesquisas para a predição de efeitos crônicos em ambientes específicos (Galvez *et al.*, 1998; Szebedinszky *et al.*, 2001; De Schamphelaere e Jansen, 2004a; De Schamphelaere e Jansen, 2004b; Schwartz e Vigneault, 2007). Em muitos países, incluindo o Brasil, a toxicidade crônica é o parâmetro considerado na proteção das comunidades aquáticas para determinadas classes de água. A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece, nos seus artigos 14 e 15,

que a manutenção da qualidade das águas de Classes 1 e 2 é garantida pela “*não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.*” Da mesma forma, o parágrafo primeiro do artigo 34 desta resolução, relativo a lançamento de efluentes, diz que “*o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente*”.

Ao mesmo tempo em que a legislação é clara a respeito da utilização dos critérios de toxicidade, em especial da toxicidade crônica, para manutenção da qualidade das águas e proteção das comunidades aquáticas nas águas de Classe 1 e 2, não se conhece ainda qualquer aprimoramento destes critérios pelos legisladores brasileiros, a partir da incorporação dos resultados de modelos como o *BLM*. Entretanto, esta é uma tendência em vários países do mundo (Paquin *et al.*, 2002; Reiley, 2007). A abordagem para o estabelecimento de parâmetros de concentração máxima permitida, durante os últimos anos, mudou da utilização das concentrações do metal total para o metal dissolvido e, mais recentemente, passou a considerar a avaliação da biodisponibilidade do metal nos diferentes ambientes aquáticos. A Agência Ambiental dos Estados Unidos (*EPA*) incorporou em 2007 o *BLM* (cobre) como ferramenta para estabelecimento de padrões de proteção de comunidades aquáticas (*USEPA*, 2007; Reiley, 2007). Desta forma, considera-se também como contribuição relevante deste trabalho o desenvolvimento de uma maior reflexão sobre os critérios utilizados no estabelecimento dos padrões ambientais brasileiros para proteção dos ambientes aquáticos.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

Os objetivos gerais deste estudo foram avaliar a aplicabilidade do modelo *Biotic Ligand Model (BLM)* em áreas de clima tropical, na região amazônica brasileira, e a partir daí contribuir para o estabelecimento de critérios de qualidade de água para cobre, por meio da utilização do modelo.

Os objetivos específicos indicados a seguir estão associados à **hipótese** de que o modelo *BLM* é capaz de prever valores de CE50 (concentração do metal que causa efeitos adversos para 50% dos organismos testados em ensaios de toxicidade) com razoável precisão, dentro da faixa de precisão estabelecida (duas vezes, para mais ou para menos). Assim sendo, os objetivos específicos da proposta são os seguintes:

- i. Avaliar se os ensaios de toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia*, realizados em laboratório, produzirão resultados consistentes com aqueles previstos pelo modelo *BLM*;
- ii. Avaliar se os ensaios de toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia*, realizados em laboratório, produzirão resultados consistentes com aqueles previstos pelo modelo *BLM*, visto que este foi desenvolvido originalmente, com base de dados mais consolidada e abrangente, para toxicidade aguda, em países de clima temperado;
- iii. Contribuir para a aplicação desse método em futuras análises de risco ambiental;
- iv. Contribuir para o estabelecimento de marcos regulatórios e políticas públicas ambientais mais consistentes com a realidade brasileira e alicerçados em bases científicas atualizadas.

CAPÍTULO 3: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Contextualização geológica das áreas de estudo

As duas áreas de estudo, Mina do Sossego e Projeto Salobo, estão situadas na Província Mineral de Carajás, Pará, uma das mais importantes do mundo. Uma imagem de satélite com a visão geral de várias minas e projetos nesta província, é apresentada na figura 3.1. A província mineral de Carajás é constituída de uma seqüência de rochas vulcânicas e sedimentares. Estas seqüências, após a deposição, foram afetadas por deformação, aumento de pressão e temperatura, e cortadas por corpos magmáticos intrusivos, especialmente por granitos. Os depósitos de cobre surgiram durante uma longa história geológica, entre 2,75 bilhões de anos até a introdução dos últimos corpos graníticos, há 1,8 bilhão de anos. Os dados geológicos apresentados neste capítulo foram extraídos de DOCEGEO (1988); Lindenmayer (1990); Costa *et al.* (1995); e Carvalho *et al.* (2003), além de relatórios internos da Vale.

A Mina do Sossego tem uma reserva provada da ordem de 255 Mt, com um teor médio de 1,0% de cobre e 0,3 g/t de ouro, e é constituída atualmente por dois depósitos principais, denominados Sequeirinho e Morro do Sossego. Estes depósitos constituem elevações topográficas que, ao longo da direção das camadas, afloram por cerca de três quilômetros.

Devido ao seu tamanho, o depósito Sequeirinho é o mais importante para o projeto. Este consiste em uma zona mineralizada única e contínua, estendendo-se por aproximadamente 2.000 m ao longo da direção E-W, e com mineralização mais fraca por outros 1.000 metros para oeste. Este depósito está situado a cerca de 700 metros a oeste/sudoeste do Morro do Sossego e aflora como um morro proeminente, com cerca de 40 metros sobressaindo na topografia geral. Na porção intemperizada, até uma profundidade de 30 metros, ocorrem minerais de cobre oxidado, com a presença de pseudo-malaquita, malaquita ($\text{Cu}_2\text{CO}_3\text{OH}_2$), cobre associado à clorita e biotita (filossilicatos de Fe, Al, Mg e K) e cobre nativo — que é raro. Nesta zona, os valores de cobre variam de 0,1% a 3,0%. O objetivo principal nesta mina é a lavra do minério sulfetado. A mineralização sulfetada de alto teor ocorre nas brechas, que geralmente são

mais ricas em Cu e Au nas proximidades dos contatos de topo e base do corpo mineralizado, mas também nas zonas cortadas transversalmente. As brechas têm uma matriz calcopirítica (CuFeS_2) com clastos de magnetita ($\text{Fe}_2\text{Fe}_3\text{2O}_4$), anfibólio (silicato hidratado de Fe, Mg, Ca e Al) e outros fragmentos líticos (rochosos).

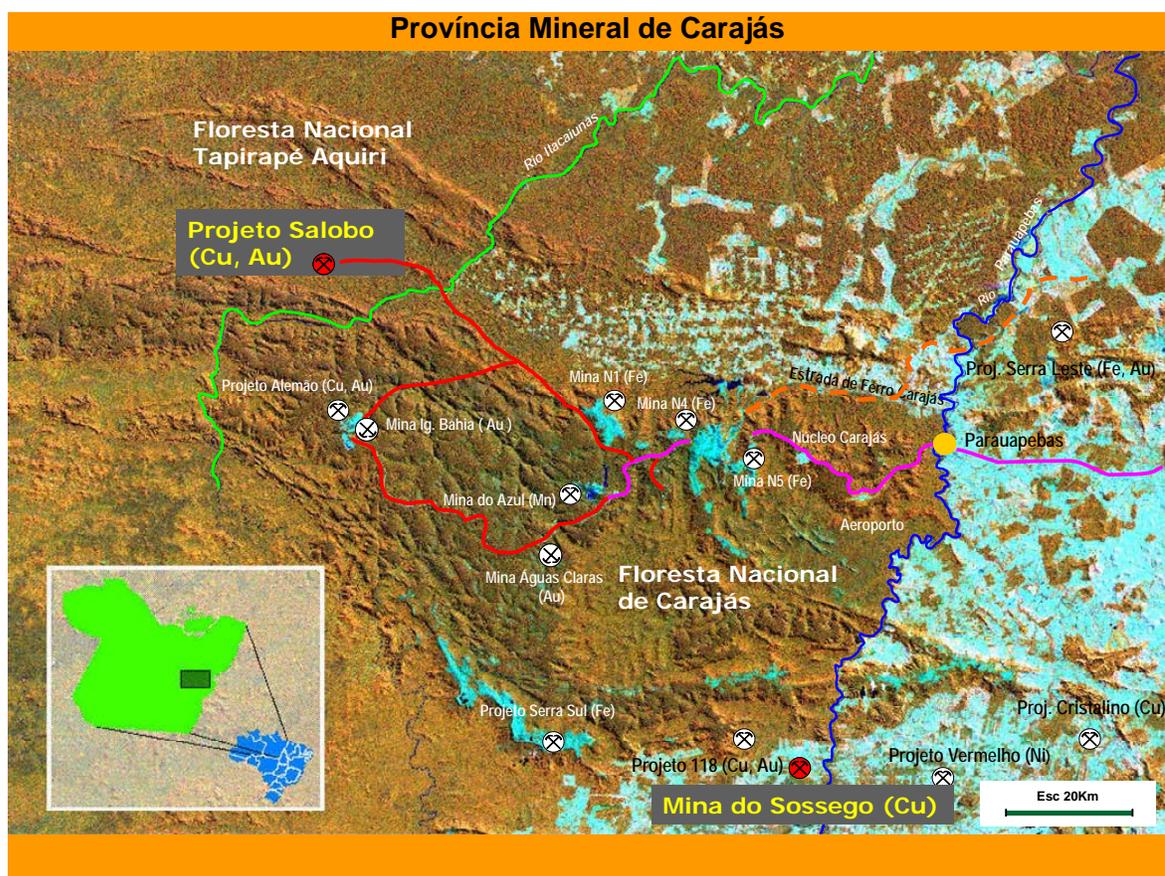


Figura 3.1 – Província Mineral de Carajás e localização das principais minas/projetos

Também são comuns stockworks (rede entrelaçada de pequenos veios portadores de mineralização) e mineralização disseminada. O flúor está presente na forma de fluorapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$), com um teor médio de 772 g/t (ppm) no minério.

O depósito do Morro do Sossego faz parte de uma grande feição circular, com cerca de 600 metros de diâmetro, que se eleva a uns 60 metros acima da topografia média local. O núcleo da estrutura circular é formado por um granito rosado a cinza escuro, de granulação média a grossa, cortado regionalmente por diques de gabro. Tudo isto é

cortado por dois corpos cilíndricos de brecha principais com abundância de calcopirita (CuFeS_2). O Morro do Sossego apresenta uma zona oxidada, com 10 a 20 metros de espessura, na qual ocorre pseudo-malaquita, crisocola $(\text{Cu,Al})_2\text{H}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot n(\text{H}_2\text{O})$ e brochantita $(\text{Cu}_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_6)$ visíveis nas fraturas, *stockworks* e disseminações, e os teores de Cu atingem até 2,0%.

O depósito de Cu-Au do Salobo é constituído por uma seqüência de xistos, metamorfisados à fácies anfibolito médio, com direção NW-SE e mergulho em torno de 75° SW. Anfibólio, granada (silicatos de fórmula geral $\text{A}_3\text{B}_2(\text{SiO}_4)_3$, com Ca, Mg, Al, Fe, Cr, Mn ou Ti), biotita, magnetita e quartzo (SiO_2) são os componentes minerais principais das rochas mineralizadas e das encaixantes. Os sulfetos de cobre estão representados por calcocita (Cu_2S) e bornita (Cu_5FeS_4) e, subordinadamente, calcopirita. Esta seqüência está capeada por quartzitos micáceos e sua base é formada por gnaisses. Rochas intrusivas ácidas e básicas completam o quadro geológico. Dados geológicos mostram que as rochas do depósito formaram-se por processos hidrotermais num sistema em que a temperatura diminuiu com o tempo, e que este processo está associado à intrusão do granito antigo do Salobo (GAS), datado em 2.573 +/-2 Ma. O minério pode ser classificado em dois grupos: tipo 1, com magnetita > 50% e Cu >1,5%, e tipo 2, com magnetita entre 10-50% e Cu entre 0,5-1,5%. A reserva lavrável é de 930 Mt, com teor médio de 0,77% de cobre e 0,46 g/t de ouro.

3.2 O modelo *BLM*

3.2.1 Relação da acumulação do metal com a toxicidade

Os limites de concentração de metais que têm a intenção de proteger a vida aquática são estabelecidos sistematicamente pelas agências regulatórias (ex: *USEPA*, 1985, 2007). Estes limites são calculados com base em procedimentos padrão de análise de dados, aplicados a testes de toxicidade em laboratório.

Um teste típico com este procedimento (teste estático/toxicidade aguda), conforme apresentado em Di Toro *et al.* (2000), é mostrado na figura 3.2. Uma série de recipientes contendo volumes iguais de água é dosado com concentrações diferentes do metal

(cobre). Como mostrado no exemplo hipotético, cada recipiente contém 1 litro de água e a dosagem de cobre varia de $< 2 \mu\text{g/L}$ de Cu ($<$ limite detecção) a $320 \mu\text{g/L}$. Dez ou mais organismos-teste são colocados em cada recipiente. O efeito a ser monitorado é a sobrevivência (ou letalidade). No exemplo, um microcrustáceo, *Ceriodaphnia dubia*, é o organismo-teste, e o efeito final, a sobrevivência, é registrado após 48 horas.

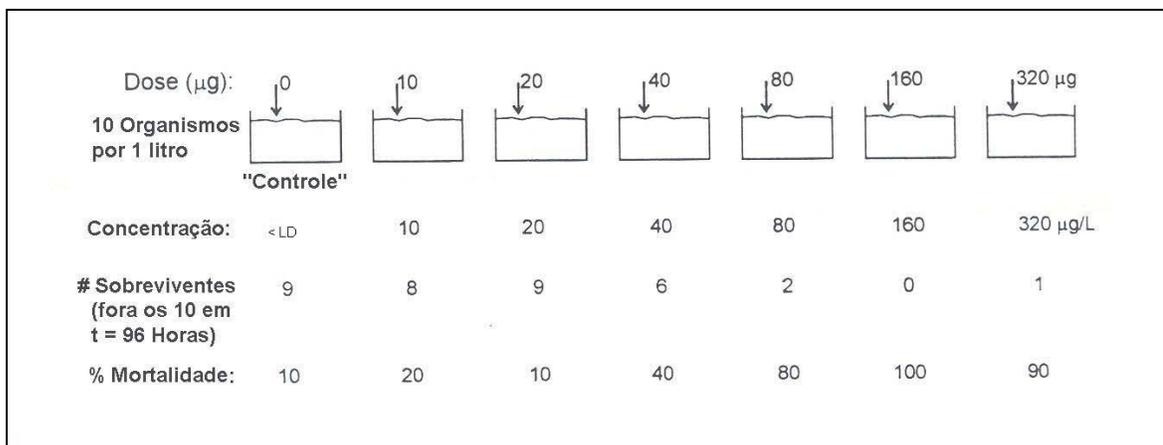


Figura 3.2 – Exemplo de teste estático de toxicidade (Di Toro *et al.*, 2000)

Os resultados do teste de toxicidade são utilizados para estabelecer uma relação entre a concentração ou dose do elemento tóxico, cobre no caso, e a resposta do organismo a este elemento. Os resultados do teste são apresentados na forma de uma curva dose-resposta, como ilustrado na figura 3.3. Conforme pode ser observado, para concentrações $< 20 \mu\text{g/L}$, a mortalidade é $< 20\text{-}25\%$, consistente com condições normalmente observadas mesmo em amostras-controle (sem a carga metálica).

Para concentrações mais elevadas, efeitos crescentes são observados, até que uma resposta máxima (100% de mortalidade) ocorre para uma concentração de cerca de $100 \mu\text{g/L}$ de Cu ou mais. Um ponto extremamente importante ao longo da curva dose-resposta é a $LC50$, a concentração do elemento que resulta em 50% de mortalidade dos organismos-teste (*lethal concentration*). Técnicas numéricas, incluindo a utilização de escala logarítmica no eixo das ordenadas, são utilizadas para dar uma forma sigmoideal à curva, com a $LC50$ sendo um dos parâmetros importantes para a análise dos resultados.

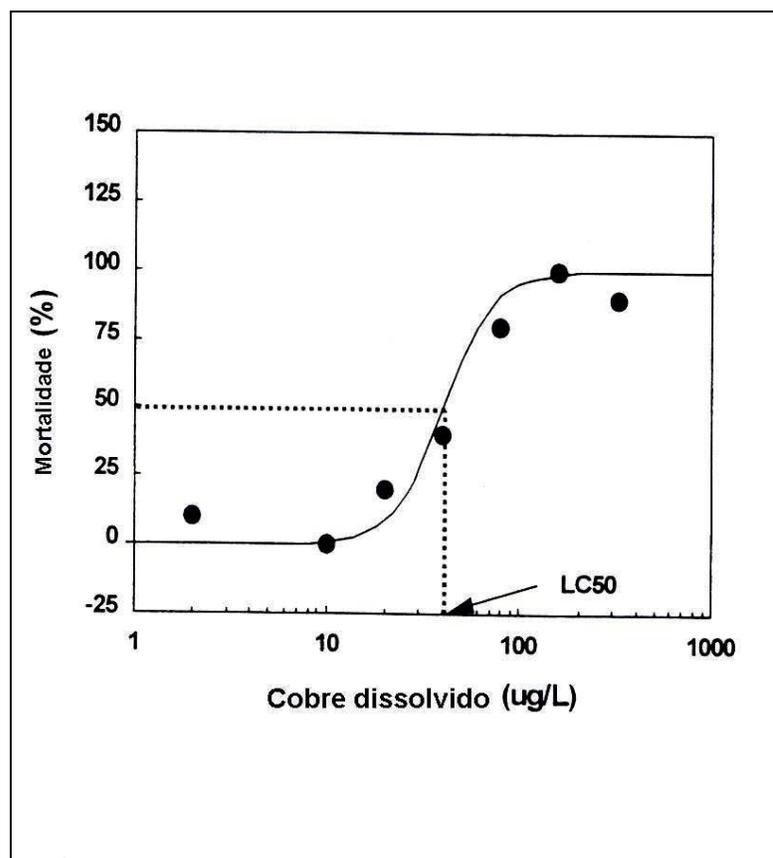


Figura 3.3 – Exemplo de curva dosagem-resposta para testes de cobre com *C. dubia* (Di Toro *et al.*, 2000)

Pagenkopf e colaboradores (1974) foram os primeiros a empregar um modelo de equilíbrio químico como uma maneira de explicar como a química da água afeta a especiação do cobre em solução e como isto se relaciona à toxicidade do cobre para os peixes. Eles concluíram que o cobre iônico (Cu^{2+}) estava mais diretamente ligado à toxicidade, e que o primeiro hidroxicomplexo (CuOH^+) era também uma espécie metálica potencialmente tóxica.

Baseada no trabalho de Sunda e Hansen (1979), a figura 3.4, também apresentada em Di Toro *et al.* (2000), ilustra como as características da qualidade da água afetam a especiação do cobre, considerando a concentração de carbono orgânico dissolvido.

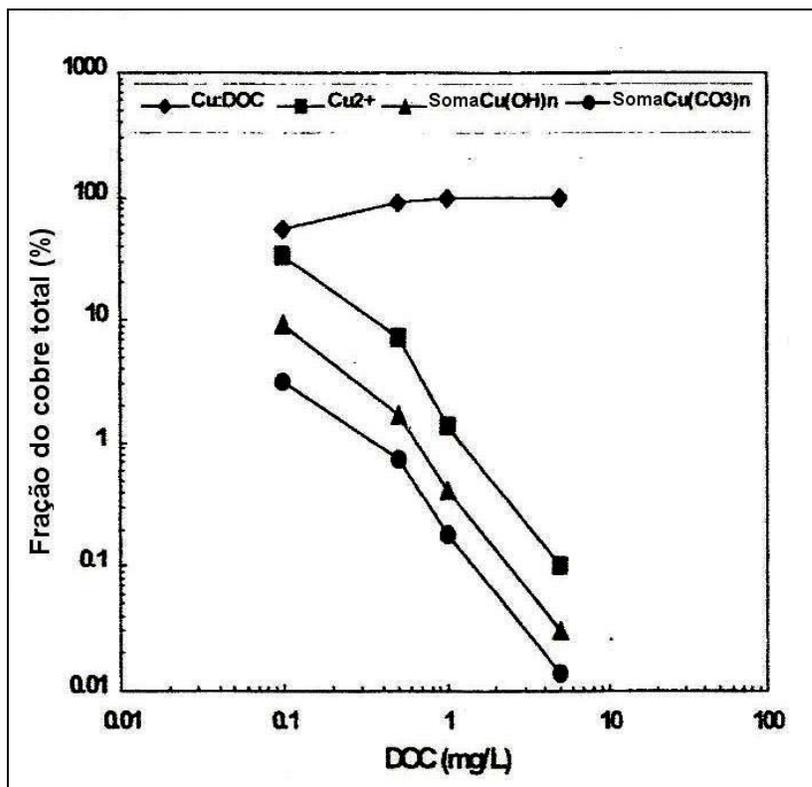


Figura 3.4 – Exemplo de especiação do cobre em água de rio, pH=7, em função da concentração de carbono orgânico dissolvido, adaptado de Sunda e Hansen (1979)

Apesar da dificuldade de se medir rotineiramente a concentração de matéria orgânica dissolvida, modelos de equilíbrio químico têm sido desenvolvidos para prever a distribuição do cobre dentre as várias formas. Entretanto, em pH 7, os complexos Cu-matéria orgânica respondem pela maior parte do cobre em solução, cerca de 60-99% ao longo da faixa de níveis de carbono orgânico dissolvido (COD) mostrado (0,1-5,0 mg/L), e mais de 98% quando o COD excede 1 mg/L, um nível muito baixo para muitas águas naturais. O cobre iônico, indicado pela segunda curva mais elevada, e mais diretamente relacionado à toxicidade por Pagenkopf *et al.* (1974), ocorre na ordem de apenas 1% do cobre total, a 1 mg/L de COD, e cerca de 10 vezes menos (0,1% do cobre total) a 5 mg/L de COD, um nível típico em muitas águas naturais. O balanço do cobre é completado pela presença de hidróxido e carbonato, primariamente CuOH^- e CuCO_3 .

Em uma série de experimentos para investigar interações entre os metais e a guelra dos peixes, Playle e colaboradores (1992) mostraram que cátions em solução competem entre

si pelo número limitado de locais na guelra, e que esta competição afeta o grau de acumulação do metal na superfície da guelra. Trabalhos posteriores (Playle *et al.*, 1993a e 1993b) avaliaram densidades locais (na guelra) e outras constantes de estabilidade condicionais que poderiam ser utilizadas no contexto do modelo químico de equilíbrio para predizer os efeitos interativos da concentração, competição e complexação de cobre na sua acumulação na guelra. Esta acumulação mostrou um padrão típico da isoterma de adsorção de Langmuir, e foi um importante avanço, visto que o nível de acumulação do metal na guelra reflete a integração de efeitos resultantes tanto da complexação do metal na água como da competição do metal com outros cátions por locais de aderência na superfície da guelra. O que faltou nos experimentos, contudo, foi uma maneira de relacionar os níveis de acumulação na guelra com o efeito tóxico.

Esta conexão foi então conseguida por meio de experimentos realizados por MacRae (1994) e MacRae *et al.* (1999), conforme relatado por Di Toro *et al.* (2001), quando peixes foram expostos a concentrações constantes de cobre dissolvido, ajustando o cobre livre pela variação de carbono orgânico dissolvido na água. Estes experimentos foram feitos usando uma concentração constante de cobre dissolvido (10 µg/L). A concentração de cobre na guelra foi regulada pela adição de ligantes orgânicos à água de teste, com diferentes afinidades pelo cobre. Uma curva dosagem-resposta foi obtida, relacionando a mortalidade à acumulação de cobre na guelra, mais do que ao cobre dissolvido ou à atividade do cobre na água.

Como mostrado na figura 3.5, a LC_{50} para cobre na guelra foi estimado em 22 nmol/grama *peso úmido* (nmol/g_w), e a concentração de cobre na guelra associada a um efeito nulo para a truta, em aproximadamente 10-12 nmol/g_w. Este número compara-se com o nível de *background* para cobre na guelra do peixe fluvial (*fathead minnow*), aproximadamente 12 nmol/g_w, medido por Playle *et al.* (1992), na ausência de cobre adicionado. Baseado nestes resultados, a LC_{50} para cobre na guelra deveria ser aproximadamente 10 nmol/g_w (LC_{50} do cobre na guelra inicialmente medido menos o nível de *background*).

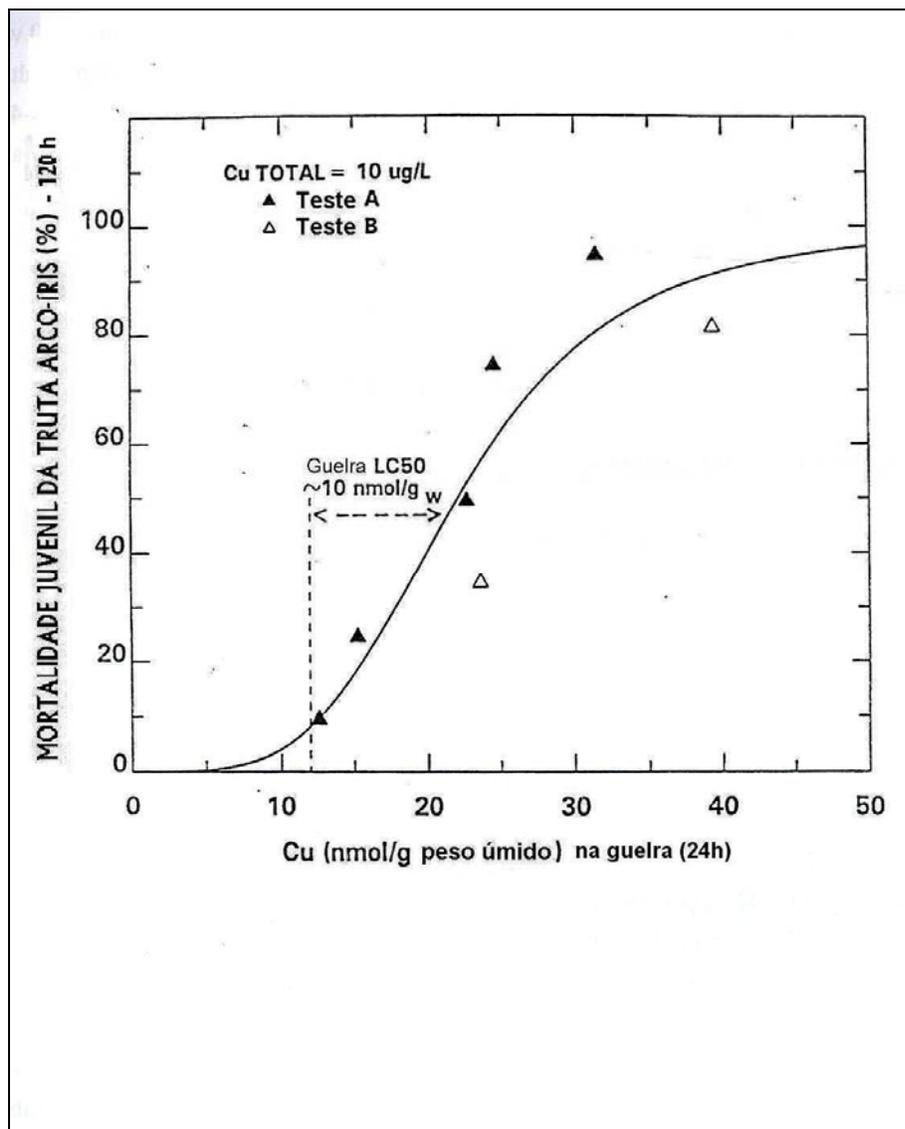


Figura 3.5 – Curva dosagem-resposta para a mortalidade de *rainbow trout*, como função da acumulação de cobre na guelra, conforme MacRae (1994)

Objetivamente, MacRae *et al.* (1999) concluíram que a medição da acumulação de cobre na guelra era uma alternativa aceitável para a determinação da afinidade de ligação de cobre na guelra ($\log K$), baseada na toxicidade. Dada esta informação, o trabalho restante necessário foi formular um modelo que fizesse a predição da acumulação do cobre na guelra para uma faixa de condições de qualidade da água (dureza, pH, COD, alcalinidade, Na e outros), e que pudesse utilizar estes resultados para prever os efeitos. Para um dado conjunto de características da água, a **LC50** previsto pelo modelo deveria corresponder à

concentração de cobre na água que resultaria numa acumulação de cobre na guelra igual a **LA50** (*lethal accumulation*).

A capacidade de prever realisticamente a *LC50* a partir da química da água é que gerou a possibilidade do desenvolvimento de uma alternativa computacional ao *WER* (*water effect ratio*), visto que estes testes envolvem a necessidade da realização de bioensaios.

O *WER* é definido como a razão entre a *LC50* da água do corpo receptor e a *LC50* da água de laboratório, para as espécies testadas (*USEPA*, 1994). O *WQC* (*Water Quality Criteria*) foi um padrão de proteção de vida aquática desenvolvido pelo *USEPA* na década de 1980, que considerava inicialmente a fração total do metal, e depois foi revisto para considerar apenas a fração dissolvida – aquela filtrada em membrana de 0,45 µm, antes da preservação por acidificação (*USEPA*, 1985). Ainda assim, os índices obtidos sempre se mostravam excessivamente restritivos, pois não consideravam todos os fatores de atenuação relacionados à química do corpo d'água receptor. Com o desenvolvimento das pesquisas, o *WQC* padrão passou a ser multiplicado pelo *WER* para definir o *WQC* específico para o local, conforme as relações a seguir:

$$WER = LC50_{local}/LC50_{lab} \quad (1)$$

$$WQC_{local} = WER \times WQC_{padr\tilde{a}o} \quad (2)$$

Apesar do método *WER* prover uma base lógica para o ajuste do *WQC* às condições locais, o método pode ser caro e demorado, freqüentemente produzindo resultados erráticos e de difícil interpretação e aplicação. Desta forma, a alternativa materializada foi a utilização do *BLM* (*Biotic Ligand Model*). Por isto, o *BLM* pode ser visto como uma maneira de fazer o teste *WER* em um computador (com economia de tempo, esforço e dinheiro), quando as variáveis mais importantes de qualidade da água forem medidas (pH, carbono orgânico e metais dissolvidos, dureza). Ainda, dados experimentais para obtenção do *WER* têm sido utilizados freqüentemente para calibração do *BLM*.

O termo geral *biotic ligand* é empregado ao invés de *gill* (guelra), porque o *BLM* considera o local de ação do metal como o “ligante biótico”, de forma mais genérica do que simplesmente a guelra do peixe, para enfatizar que o modelo pode ser aplicado a

quaisquer outros organismos em que este local de ação está diretamente em contato com o ambiente aquoso externo. A estrutura genérica do *BLM* pode ser observada na figura 3.6, pois a premissa do modelo é de que a resposta toxicológica irá variar de uma maneira previsível e sistemática, refletindo tanto a química do ambiente aquático como a fisiologia do organismo. Isto, por sua vez, permite utilizá-lo para estabelecer parâmetros regulatórios.

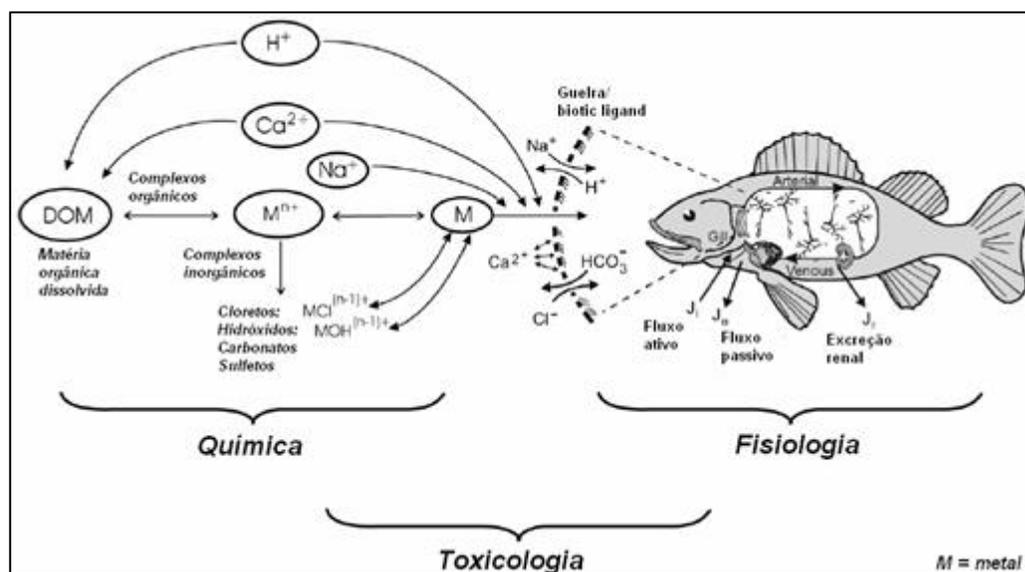


Figura 3.6 – Representação esquemática do Biotic Ligand Model e as interações entre química, fisiologia, toxicologia e regulamentação (in Almeida, 2006, adaptado de Paquin et al., 2002)

Baseado em elementos conceituais desenvolvidos previamente por outros modelos, o *BLM* utiliza uma abordagem relativamente sofisticada para representar interações metal-matéria orgânica na predição da biodisponibilidade do cobre e, em seguida, na predição da acumulação do cobre na guelra (*LA50*), baseada na competição deste com outros cátions em solução. A acumulação de cobre prevista é utilizada para predizer a letalidade.

3.2.2 Aprimoramento dos modelos de toxicidade

A estrutura conceitual do *BLM* é uma adaptação do *Gill Site Interaction Model (GSIM)* originalmente proposto por Pagenkopf (1983) e mais recentemente utilizado por Playle e colaboradores (Playle et al., 1992; Playle et al., 1993a ; Playle et al. 1993b; Janes e

Playle, 1995; Hollis *et al.*, 1997; Playle, 1998; Wood *et al.*, 1999), e também do *Free Ion Activity Model (FIAM)* (Morel, 1983; Campbell, 1995). *GSIM* e *FIAM* são os “ancestrais teóricos” dos modernos *BLM*.

O *FIAM* é um modelo conceitual que descreve como as variações nos níveis de efeito dos metais podem ser explicadas com base na especiação dos metais e nas interações com o organismo. McGeer *et al.* (2000) trouxeram recentes e importantes contribuições do ponto de vista de entendimento dos mecanismos fisiológicos, para aplicação ao *BLM*.

Enquanto a descrição inicial do *FIAM* era primariamente conceitual, o *GSIM* foi utilizado para interpretar resultados de testes de toxicidade para metais. Embora o *FIAM* e o *GSIM* contenham muitas das características incorporadas ao *BLM*, e sejam muito similares a este, nos princípios, eles não foram prontamente aceitos pelas agências regulatórias para utilização no estabelecimento de *WQC (Water Quality Criteria)* para metais. Embora estas razões não estejam muito claras, a contribuição destes modelos para o desenvolvimento do *BLM* é plenamente reconhecida hoje.

O *BLM* é fundamentalmente um modelo baseado no equilíbrio químico. A correlação entre exposição e efeito é feita computacionalmente, da mesma forma que seria feita num teste de toxicidade no laboratório, entre um íon e um organismo teste. Na verdade, um equilíbrio verdadeiro não se aplica, mas como as reações no local de ligação do organismo (ex: guelra) ocorrem muito mais rapidamente do que a resposta patológica, os princípios de um modelamento em equilíbrio podem ser utilizados.

Como comentado anteriormente, o papel da complexação do metal é crítico, visto que a formação de complexos metálicos orgânicos e inorgânicos representa uma fração significativa do metal não-biodisponível. Como mostrado na figura 3.6, o metal dissolvido existe em solução parcialmente como íon metálico livre. Esta espécie é hipoteticamente considerada como a espécie biodisponível nas versões mais simplificadas do modelo *FIAM*. O resto do metal existiria como complexos não-biodisponíveis resultantes das reações com ligantes orgânicos ou inorgânicos. Naturalmente, não é possível verificar diretamente quais espécies são biodisponíveis, mas pode-se, por outro lado, verificar se as conseqüências das hipóteses corroboram as observações. Esta é a razão pela qual se

compara a toxicidade prevista com a observada como uma maneira de testar a utilidade do modelo.

A principal característica que distingue o *BLM* em relação à hipótese que considera apenas o íon metálico livre como espécie tóxica, é que este compete com outros cátions, como Ca^{2+} e H^+ , na ligação com ligantes bióticos, como mostrado na fig. 3.6. Como resultado, a presença destes cátions em solução podem mitigar a toxicidade, sendo esta atenuação dependente de suas concentrações e da força de aderência ao ligante biótico.

Conforme Paquin *et al.* (2002), estudos desenvolvidos principalmente ao longo dos últimos 70 anos têm avançado na identificação dos processos fisiológicos que ocorrem nas guelras. Estes processos estão relacionados, sem se limitar, a reações de regulação iônica e ácido-base, troca de gases e excreção de nitrogênio. Estas funções são mediadas por uma complexa série de proteínas negativamente carregadas na superfície das membranas, que se ligam aos íons metálicos positivamente carregados. Os mecanismos fisiológicos da toxicidade para a maioria dos metais podem ser divididos genericamente em três categorias: metais monovalentes (Ag^+ , Cu^+), que afetam o transporte de Na^+ , da mucosa para o sangue; metais divalentes (Cd^{2+} , Zn^{2+}), que rompem o metabolismo de Ca^{2+} ; e metais que passam pela guelra e agem no sistema nervoso central (Pb^{2+} , Hg^{2+}). No caso do cobre, é importante notar que, embora ele ocorra predominantemente como Cu^{2+} no meio aquoso, é provavelmente reduzido para Cu^+ antes de ser transportado ao longo das membranas biológicas.

3.2.3 Especiação química e o *BLM*

Os cálculos computacionais para especiação química são padrão e podem ser feitos por um dos muitos programas existentes. No caso do *BLM*, foi escolhido o *CHESS* (*Chemical Equilibria in Soils and Solutions*) (Santore e Driscoll, 1995). A especiação inorgânica é a parte mais direta dos cálculos porque os ligantes são bem caracterizados e suas constantes bem conhecidas. A parte mais difícil é modelar a complexação de metais pela matéria orgânica. Neste caso, o que se buscou foi um modelo que já tivesse sido calibrado para múltiplos conjuntos de dados, para o maior número de metais possível, de tal forma que este modelo pudesse ser aplicado sem necessidade de calibrações

adicionais. Neste caso, foi escolhido o *WHAM* versão V (*Windermere Humic Aqueous Model*) (Tipping e Hurley, 1992; Tipping, 1993; Tipping, 1994).

WHAM (V) é um dos modelos de complexação metal-matéria orgânica. Ele contém um modelo detalhado de ligação de prótons, o qual é posteriormente expandido para incluir ligações metálicas catiônicas. No modelo, prótons ligam-se a carboxila (tipo A) ou fenóis (tipo B). Uma distribuição uniforme de pK é especificada para cada tipo destes, os quais são parametrizados pelo pK_A e pK_B médios e suas respectivas faixas ΔpK_A e ΔpK_B . Dados experimentais utilizando o modelo permitem considerá-lo robusto o suficiente para o cálculo mais complexo da especiação, isto é, a complexação metal-matéria orgânica.

3.2.4 Primeira aplicação do modelo *BLM* e observações sobre os efeitos dos parâmetros químicos na toxicidade

A primeira aplicação do modelo *BLM* foi feita por Erickson *et al.* (1996) utilizando uma série de experimentos em que o peixe foi exposto a concentrações crescentes de cobre, com determinação da *LC50*, e os resultados estão apresentados em Di Toro *et al.* (2000) e Di Toro *et al.* (2001). Variações sistemáticas de importantes parâmetros químicos da água foram feitas para produzir *LC50* como função destas concentrações, conforme está descrito a seguir.

Efeito do carbono orgânico dissolvido (COD) na toxicidade

Este efeito está mostrado na figura 3.7. O pH e a dureza foram mantidos aproximadamente constantes. A parte superior da figura mostra que a *LC50* para Cu total aumenta com a concentração de COD. Como resultado, quando COD aumenta, mais cobre é necessário para exercer o mesmo grau de toxicidade. A figura do meio mostra o cobre livre (Cu^{2+}) correlacionado à *LC50*. A *LC50* foi calculado utilizando-se o *WHAM* (V), baseado nos parâmetros da figura superior. Os resultados são relativamente variados e aproximadamente independentes da concentração de COD. Isto é consistente com o modelo *FIAM*, no qual a toxicidade está diretamente ligada à concentração de cobre livre.

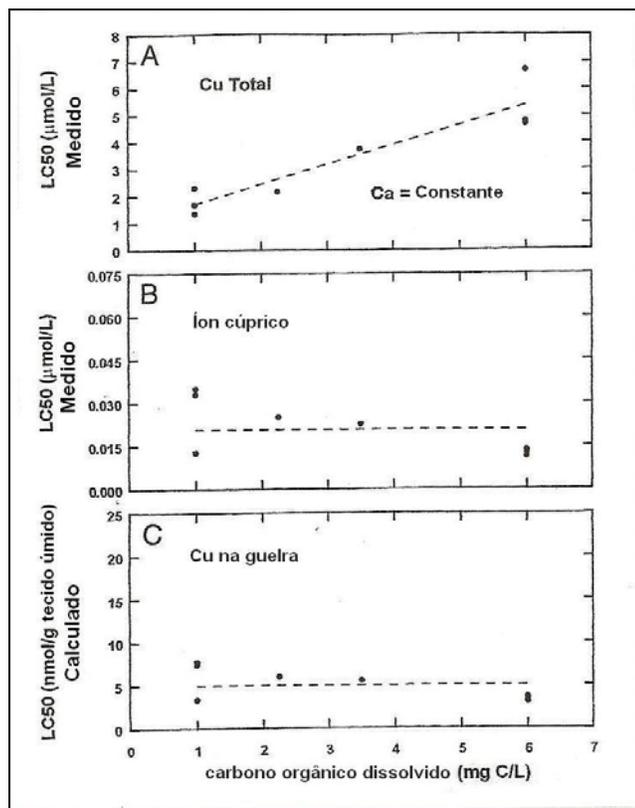


Figura 3.7 – Relação da LC50 para cobre com variações na concentração de matéria orgânica, segundo Erickson et al., 1996 (Di Toro et al., 2000)

A parte inferior da figura demonstra que a concentração calculada de cobre na guelra do peixe está associada à LC50. Esta concentração foi calculada utilizando-se o modelo *WHAM* para complexos metálicos húmicos e o *CHES* para computar a acumulação na guelra. Foram utilizados ainda a densidade local da guelra e as constantes de estabilidade Cu^{2+} , Ca^{2+} e H^+ /guelra, estimadas por Playle *et al.* (1993).

A média da LC50 para o Cu intercambiável na guelra é ligeiramente < 5 nmol/g_w. O fato deste número ser aproximadamente constante ao longo de toda a faixa de COD indica que a concentração de cobre na guelra pode ser utilizada para predizer a mortalidade aguda quando a concentração de cobre varia.

Efeito da dureza na toxicidade

O efeito das variações da concentração do Ca na $LC50$ do Cu é demonstrado na figura 3.8. Os experimentos foram feitos com COD e pH constantes. Na faixa das condições experimentais, entre 0,5 e 2,5 meq Ca/L, a razão Ca:Mg foi aproximadamente 2:1 e a dureza correspondente variou de 75 a 375 mg $CaCO_3/L$. Como no caso do COD, a $LC50$ para Cu total medido cresce proporcionalmente ao aumento da concentração de Ca (parte superior da figura).

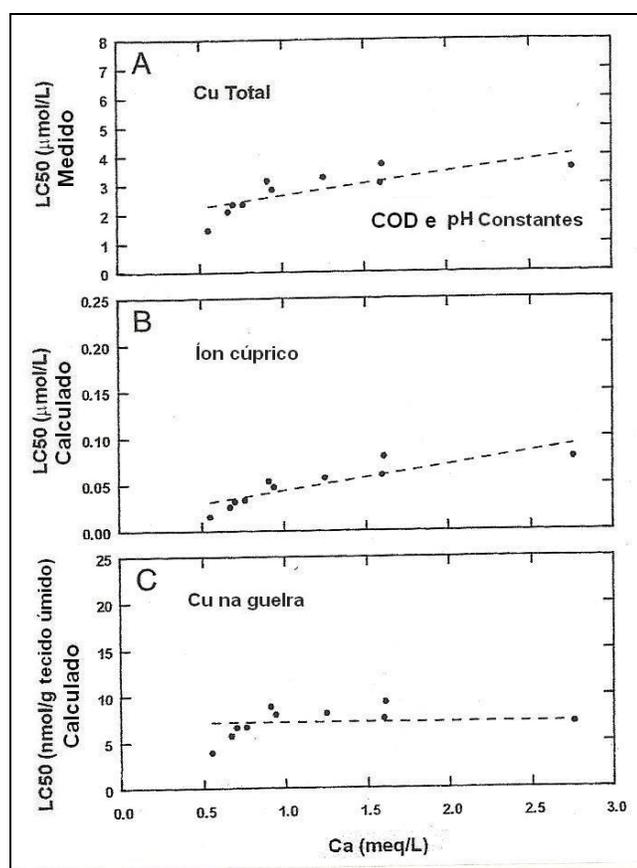


Figura 3.8 – Relação da $LC50$ para cobre com variações na dureza/concentração de Ca, segundo Erickson *et al.* (1996)

A mesma situação, para o caso do Cu livre, é apresentada no gráfico intermediário da figura 3.8. Percebe-se uma variação da $LC50$ do cobre livre em função da variação da concentração de Ca, sendo que o índice $LC50$ não está associado somente à concentração do íon cobre. Isto não é surpreendente, visto que o cátion Cu não forma

complexos com o Ca ou com outros cátions. Por isto, não há interações entre Cu e Ca na água. Comparando-se com os resultados apresentados na figura 3.7, estes resultados indicam que existe uma variação de mais de 5 vezes do íon cobre (0,015 a 0,15 $\mu\text{mol/L}$) associado à $LC50$ do cobre para peixes. Isto indica que considerar somente o cobre livre como ligante biodisponível não pode ser utilizado para explicar estes dados.

Em contraste com os resultados do íon cobre, as concentrações calculadas de Cu na guelra, mostradas na figura inferior, indicam uma concentração relativamente consistente para a faixa de concentrações da Ca testadas. A média de Cu na guelra dos peixes está em razoável concordância com a concentração de Cu observada na figura anterior (experimento com COD). A razão pela qual o cobre na guelra tende a ser relativamente constante, mesmo quando a concentração de cobre livre cresce, é que o Ca compete com o íon cobre para a ligação no ligante biótico. Conseqüentemente, um nível mais elevado de íon cobre é requerido para alcançar a mesma concentração de cobre na guelra associada à mortalidade, quando aumenta a concentração de Ca.

Welsh *et al.* (2000) e Naddy *et al.* (2002) apontaram uma maior complexidade na relação dureza-toxicidade. Seus estudos mostraram que Ca e Mg podem modificar a toxicidade em diferentes níveis, dependendo da concentração destes íons, separadamente, ou de sua razão em diferentes espécies.

Efeito do pH na toxicidade

O efeito das variações do pH na $LC50$ do cobre está mostrado na figura 3.9. A parte superior mostra a $LC50$ para cobre total em função do pH. Este índice cresce de 0,1 para 2 $\mu\text{g/L}$ quando o pH cresce de 6,5 para 8,8. As variações nas concentrações de cobre na guelra refletem variações nas medições do íon cobre. Contudo, a média de aproximadamente 7 nmol/g_w de cobre na guelra está dentro da faixa de resultados para os dois tipos de experimentos anteriores (COD e dureza).

No contexto da estrutura do *BLM*, o pH afeta a toxicidade do cobre de várias maneiras. O modelo prediz que a toxicidade decrescerá com o pH crescente, como resultado do efeito do pH na especiação e complexação do cobre. Quando o pH cresce, a fração do cobre

que existe como complexos de carbonato de cobre cresce, conseqüentemente reduzindo a toxicidade. Adicionalmente, a deprotonação do COD em pH mais elevado aumenta o grau de complexação COD-cobre, o que também reduz a biodisponibilidade do metal. Estes efeitos na toxicidade são de certa forma compensados pela competição entre íons H^+ e Cu^{2+} aderidos ao ligante biótico, pois quando o pH cresce (com a diminuição da concentração de H^+), maior concentração de Cu^{2+} pode ocorrer no ligante biótico.

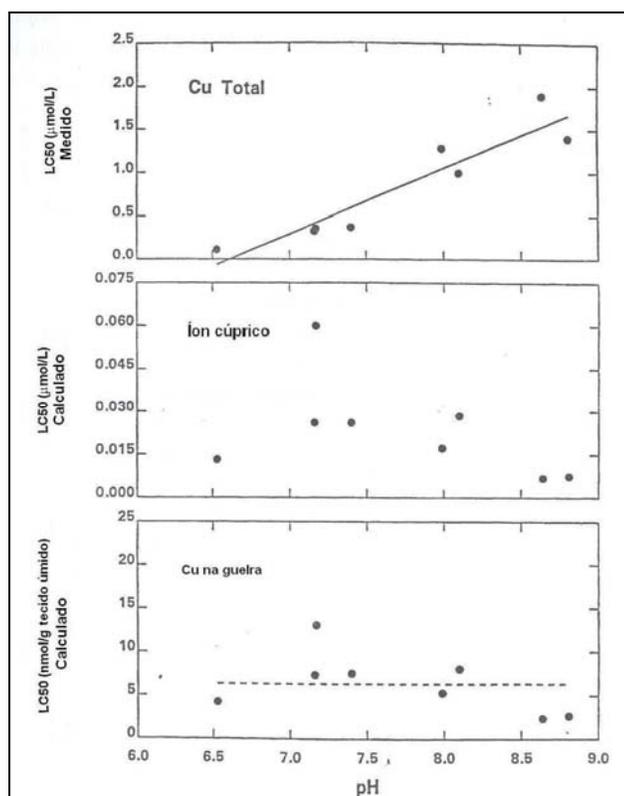


Figura 3.9 - Relação da $LC50$ para cobre com variações no pH, segundo Erickson *et al.*, 1996 (Di Toro *et al.*, 2000)

Os resultados apresentados anteriormente indicaram que o *Biotic Ligand Model* descrevia as variações de toxicidade do cobre de maneira bastante razoável. A $LC50$ calculado para o cobre na guelra do peixe, variando de 5 a 12 nmol/ g_w nas faixas de COD, dureza e pH testados, mostrava razoável concordância com a $LC50$ para o cobre na guelra do peixe *rainbow trout* (10 nmol/ g_w). Este resultado era consistente com as sensibilidades comparadas para este peixe, em relação ao cobre.

Desta forma, concluiu-se que o *BLM* podia explicitamente explicar as variações na toxicidade resultantes não somente de mudanças na dureza, mas também de variações locais específicas no conteúdo de COD, pH e alcalinidade.

3.2.5 Equações de equilíbrio químico do modelo (Di Toro *et al.*, 2001)

O *BLM* considera a hipótese de que a interação metal-ligante biótico pode ser representada, da mesma forma, como qualquer outra reação de uma espécie metálica com um ligante orgânico ou inorgânico. Considerando um ligante biótico orgânico L_b^- e um metal divalente M_i^{2+} , a concentração do complexo metal-ligante é determinada pela equação

$$[M_iL_b^+] = K_{M_iL_b}[M_i^{2+}][L_b^-] \quad (3)$$

onde $K_{M_iL_b}$ é a constante de estabilidade do complexo metal-ligante e os colchetes representam a concentração molar.

Assume-se que a protonação também pode ocorrer, com a formação de um complexo próton-ligante biótico HL_b , com concentração $[HL_b]$ e constante de estabilidade K_{HL_b} :

$$[HL_b] = K_{HL_b}[H^+][L_b^-] \quad (4)$$

A equação do balanço de massa associada ao ligante biótico L_b^- é

$$[L_b^-]_T = [L_b^-] + [HL_b] + \sum_{i=1}^{N_{M_i}} [M_iL_b^+] \quad (5)$$

onde $[L_b^-]_T$ é a densidade total do local de aderência no ligante biótico (por exemplo, nmol de locais disponíveis/g de tecido na guelra), $[HL_b]$ é a concentração de locais protonados e N_{M_i} é o número de complexos metálicos $M_iL_b^+$, por exemplo, CuL_b^+ , CaL_b^+ , que são formados com o ligante biótico L_b^- .

Equações análogas para o cátion metálico M_i^{2+} e outros ligantes presentes no meio aquoso L_j^- , que formam complexos metal-ligante, são

$$[M_iL_j^+] = K_{MiL_j}[M_i^{2+}][L_j^-] \quad (6)$$

$$[HL_j] = K_{HL_j}[H^+][L_j^-] \quad (7)$$

$$[L_j^-]_T = [L_j^-] + [HL_j] + \sum_{j=1}^{N_{L_j}} [M_iL_j^+] \quad (8)$$

onde K_{MiL_j} e K_{HL_j} são as constantes de estabilidade para estes ligantes. A equação do balanço de massa para os cátions metálicos em solução é

$$[M_i^{2+}]_T = [M_i^{2+}] + [M_iL_b^+] + \sum_{j=1}^{N_{L_j}} [M_iL_j^+] \quad (9)$$

onde N_{L_j} é o número de complexos metal-ligante, incluindo complexos hidroxílicos, formados pelo M_i^{2+} .

A quantidade de metais ligados ao ligante biótico $M_iL_b^+$ é usualmente insignificante relativamente às espécies aquosas, a menos que a concentração da biota no experimento seja muito grande. Assim, a equação (9) torna-se

$$[M_i^{2+}]_T = [M_i^{2+}] + \sum_{j=1}^{N_{L_j}} [M_iL_j^+] \quad (10)$$

Os parâmetros requeridos, específicos para o *BLM*, são as constantes de estabilidade condicionais K_{HL_b} e K_{MiL_b} , $i=1\dots N_{Mi}$ para o próton e os complexos metal-ligante biótico (eq. 3 e 4), e a densidade total do local de aderência no ligante biótico $[L_b^-]_T$ (eq. 5). Para peixes, a densidade e as constantes de estabilidade são determinadas com base em medições experimentais na guelra, e são disponíveis para alguns metais, incluindo cobre, cádmio e prata. Para outros organismos, os valores são obtidos ajustando o modelo aos dados de mortalidade, como discutido a seguir.

O modelo é baseado na idéia de que a mortalidade (ou outro efeito tóxico) ocorre se a concentração de metal no ligante biótico atinge uma concentração crítica C_{Mi}^* :

$$C_{Mi}^* = [M_iL_b^+] \quad (11)$$

Esta concentração crítica para mortalidade somente pode ser determinada a partir de experimentos de toxicidade que estabelecem as concentrações para *LC50* ou o *EC50* (aquelas que causam mortalidade – *LC50* – ou outro efeito – *EC50* – para 50% dos organismos). Uma vez que as densidades e as constantes de estabilidade são conhecidas, a concentração crítica pode ser determinada computando a concentração no ligante biótico que corresponde à concentração *LC50* ou *EC50* do metal no meio aquoso. A validade do *BLM* pode ser estabelecida somente se a concentração crítica C_{Mi}^* for a mesma para toda a faixa de variação da composição química da fase aquosa testada.

3.3 Versões posteriores do *BLM*

Niyogi e Wood (2004) apresentam uma avaliação crítica de diferentes versões do *BLM* para cobre e outros metais. Estas versões posteriores foram desenvolvidas para calibrar o modelo, considerando outros organismos, como os microcrustáceos (*dafinídeos*).

São mencionadas quatro versões do *BLM* para cobre, sendo três para testes agudos (“A, B e C”) e uma para testes crônicos (“D”). A versão A é considerada a original desenvolvida para peixes e adaptada para *dafinídeos* (Di Toro *et al.*, 2001 e Santore *et al.*, 2001). A “B” é a versão aguda desenvolvida para *Daphnia magna* por De Schamphelaere e Jansen (2002); a “C” é a versão refinada da “B” (De Schamphelaere *et al.*, 2002); e a “D” é o modelo crônico para *Daphnia magna*, desenvolvido por De Schamphelaere e Jansen (2004a).

As principais diferenças entre as três versões para o modelo agudo são:

- diferentes constantes de afinidade para algumas ligações complexo catiônico-ligante biótico;
- diferentes premissas sobre as formas de cobre que podem se ligar ao ligante biótico;
- diferentes constantes para os complexos inorgânicos de cobre;
- diferentes premissas em relação à ligação Cu-matéria orgânica;
- diferentes valores de *LA50* para *Daphnia sp.*

Ao contrário dos modelos agudos, no crônico nenhum efeito significativo do Ca^{2+} , Mg^{2+} ou dos dois, de forma combinada, foi observado. Por outro lado, as constantes de afinidade dos complexos Cu^+ -ligante biótico e o efeito de competição do Na^+ no modelo crônico são semelhantes aos do modelo agudo. Além disto, um aumento na competição dos prótons e na biodisponibilidade do CuOH^+ e CuCO_3 foi observada. Também foi assumido um percentual ótimo para FA (*fulvic acids*), derivado da estimativa de diferentes capacidades de complexação para diferentes tipos de matéria orgânica, ao invés da premissa de 50% FA reativo para as versões B e C. A qualidade da matéria orgânica parece ser muito menos importante neste modelo crônico, pelo menos para *Daphnia magna* (De Schamphelaere e Jansen, 2004b). É importante ressaltar, desde já, que neste trabalho foi utilizada a versão disponibilizada pela HydroQual (2007) na *internet*, desenvolvida para toxicidade aguda e “calibrada” para toxicidade crônica, conforme detalhado no item 4.4. Esta versão é uma evolução e consolidação de todas as pesquisas desenvolvidas por diferentes autores ao longo dos últimos anos.

Villavicencio *et al.* (2005) avaliaram as três versões do modelo agudo citadas anteriormente em comparação a testes de 48 h LC_{50} , para três espécies de *daphnideos*, em trinta e cinco águas naturais do Chile, com faixas abrangentes de pH, dureza e conteúdo de matéria orgânica. Todas as versões tiveram resultados satisfatórios (dentro da faixa de aceitação de duas vezes, para mais ou para menos, em 75% dos casos).

Gensemer *et al.* (2002) trabalharam com *Ceriodaphnia dubia* e tiveram sucesso aplicando a versão A ligeiramente modificada e ajustada para dados de toxicidade da literatura, para esta espécie. Foi adicionado um log K para o complexo Mg^{2+} -ligante biótico na predição do EC_{50} (48 h). Ao contrário, Long *et al.* (2004) tiveram sucesso limitado aplicando a versão A para prever toxicidade de cobre para *Daphnia magna*. Com base nestes resultados, Niyogi e Wood (2004) consideraram prematuro recomendar especificamente uma versão do *BLM*.

Mais recentemente, De Schamphelaere *et al.* (2004) utilizaram uma abordagem nova (medição do percentual de ácido fúlvico na matéria orgânica por meio do coeficiente de absorção UV – ultravioleta) para enfatizar os efeitos de proteção de diferentes tipos de matéria orgânica no modelo agudo para *Daphnia magna*. Estes autores utilizaram a

versão C do *BLM* e 90% dos resultados para *EC50* (48 h) estiveram dentro de uma faixa de até 1,3 vezes do valor observado nos testes, o que pode ser considerado bastante satisfatório.

3.4 Observações recentes, especulações e necessidades de desenvolvimento do modelo

Como já mencionado, a principal razão para a utilização do *BLM*, ao invés do *gill model*, é a expectativa de sua aplicação para outros organismos, além do peixe. No caso de alguns microcrustáceos, por exemplo, *dafinídeos*, nenhuma concentração de metal no ligante biótico está disponível, e assim não existe uma maneira de determinar esta concentração crítica associada a 50% de mortalidade (C_{Mi}^* – eq. 11). Nestes casos, o *BLM* é ajustado para estes organismos, determinando a concentração crítica no ligante biótico, para o metal de interesse, que reproduz a *LC50* observado (Paquin *et al.*, 1999 e Santore *et al.*, 2001). Desta forma, é assumido que as constantes de ligação para os metais são as mesmas, independentemente da espécie considerada. Naturalmente, a única forma de comprovar esta hipótese é comparar os resultados de *LC50* para uma extensa faixa de variação das condições químicas da água, conforme mostrado na figura 3.10.

Esta figura mostra valores de *LC50* calculados (*predicted*) e observados (*measured*) para Cu e Ag, para peixes (*fathead minnow* e *rainbow trout*) e *Daphnia pulex*. As linhas tracejadas delineam um fator de duas vezes a incerteza. Para cada um dos metais, a única diferença entre o modelo para peixes e para *Daphnia pulex* é a concentração crítica no ligante biótico (C_{Mi}^* – eq. 11).

As necessidades de desenvolvimento do modelo, apontadas por Paquin *et al.* (2002), são:

- (i) no modelo para toxicidade aguda os ligantes mais fortes estão saturados e não exercem uma influência grande sobre a especiação do metal; ao contrário, no caso da toxicidade crônica, em que as concentrações do metal são menores, estes ligantes fortes têm que ser considerados relevantes (matéria orgânica e outros);
- (ii) investigar o grau em que outras espécies, além do metal livre (M^{n+}), por exemplo $M(OH)^+$, aderem ao ligante biótico e exercem a toxicidade;

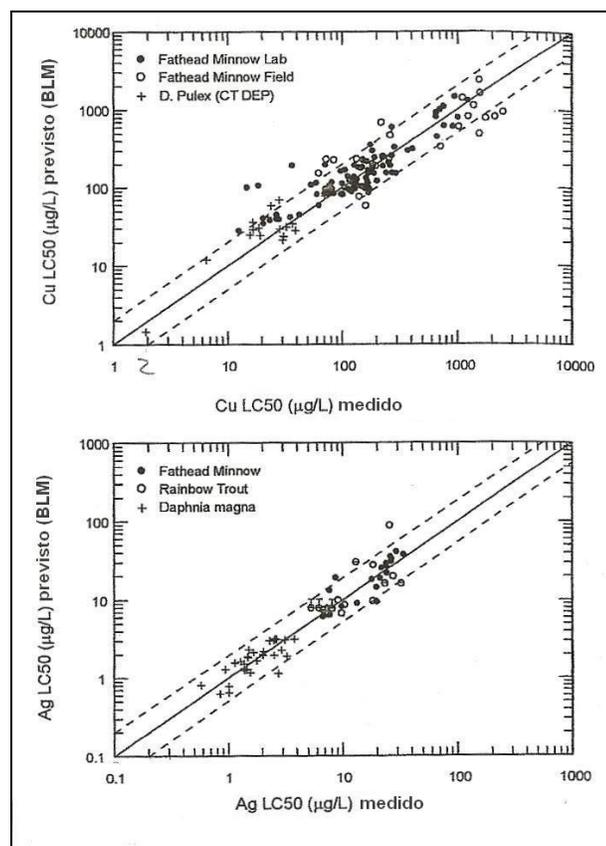


Figura 3.10 – Comparação da LC_{50} previsto pelo BLM e medido em laboratório, para cobre e prata, e diferentes organismos, segundo Erickson *et al.* (1996); Dunbar (1996); Bury *et al.* (1999); Bills *et al.* (1997)

- (iii) deve-se considerar os aspectos termodinâmico e cinético das reações; o BLM assume que a acumulação de metais no ligante biótico está sob controle termodinâmico, isto é, que a internalização é lenta relativamente ao transporte do metal da solução aquosa para a superfície biológica e depois sua reação na interface epitelial; desta forma, considera que há tempo de ocorrer uma resposta na biodisponibilidade do metal, relativamente às mudanças na especiação; por outro lado, sob certas condições, por exemplo, concentrações metálicas baixas, esta taxa de difusão no meio aquoso é a etapa limitante, e por isto é necessário entender sob quais condições isto ocorre e para quais metais;
- (iv) o BLM assume que após certo tempo ocorre um equilíbrio entre a superfície da guelra e o meio aquoso; entretanto, o fato de que os organismos podem adicionar amônia e CO_2 na água, influenciando a química da água e, conseqüentemente, a especiação

metálica no micro-ambiente da guelra, leva à necessidade de uma melhor investigação deste aspecto;

- (v) estudar melhor o comportamento de outras espécies;
- (vi) estudar melhor alguns aspectos nos ensaios de toxicidade crônica, pois as densidades do local de ligação e constantes de estabilidade mudam em resposta a exposições mais longas (Szebedinsky *et al.*, 2001), além de ocorrer uma recuperação fisiológica dos níveis de Na^+ (Lauren e Wood, 1987; Galvez *et al.*, 1998; Galvez e Wood, 2002);
- (vii) considerar as novas informações sobre fisiologia, a fim de esclarecer melhor os mecanismos de interação dos metais nos ligante bióticos;
- (viii) considerar a natureza e as propriedades dinâmicas do ligante biótico, visto que atualmente o modelo considera uma estabilidade metal(cátions)-ligante que não varia, independente da química do meio aquoso; entretanto, o ligante biótico é parte de um organismo vivo e pode mudar suas propriedades, por exemplo, como resposta a perturbações ambientais;
- (ix) considerar um refinamento do modelo, já que estudos em nível molecular têm demonstrado que pode não existir simplesmente um único valor de $\log K$ entre um metal e um ligante biótico, mas muitos, e que a abundância metálica relativa de cada “porção” da ligação varia de acordo com alguns fatores, como a exposição prévia aos metais.

Trabalhos posteriores, mais recentes, (De Schamphelaere e Jansen, 2002 e Heijerick *et al.*, 2002) mostram que prótons (pH) mitigam a toxicidade do cobre em *D. magna* e do zinco em algas, mas exercem efeito oposto no caso do zinco em *dafnínideos*. Isto ressalta a necessidade de se estar atento ao fato de que o efeito da química da água na toxicidade do metal é dependente tanto do metal como do organismo-teste.

Bell *et al.* (2002) abordam o *BLM* e mecanismos moleculares na célula para correlacionar especiação metálica e toxicidade. São apresentadas situações em que o critério de equilíbrio termodinâmico utilizado no *BLM* não pode ser considerado e as implicações disto na sua capacidade de predição. Os mecanismos moleculares são discutidos em termos de como um metal “classe B” (ex: Cu, Ag, Hg) pode entrar na célula, como são distribuídos e como a célula responde a isto. Como estes metais ligam-se fortemente ao

enxofre, todas as espécies S^{2-} devem ser consideradas nos sistemas aquáticos, mesmo sob condições oxidantes.

Também, Niyogi e Wood (2004) apontaram necessidades de desenvolvimento do modelo, conforme a seguir:

- (i) o *BLM* foi originalmente concebido para peixes e em alguns casos foi recalibrado para *Daphnia* pelo ajuste da *LA50*, para se adequar aos resultados dos testes de ecotoxicidade; com isto, questões a serem consideradas são: a natureza arbitrária destes ajustes; possíveis diferenças de mecanismo entre *Daphnia* e peixes, que podem alterar o valor de $\log K$ (afinidade), particularmente para Ca^{2+} e Mg^{2+} ;
- (ii) a *LA50* não é necessariamente a carga de metal na guelra do peixe ou em todo o corpo da *Daphnia*, mas a quantidade real de metal ligada a uma proteína “receptora”, como uma enzima ionoregulatória; portanto, um refinamento importante a considerar é a necessidade futura de incorporar propriedades verdadeiras de ligação do metal (B_{max} , $\log K_{BL-Me}$, *LA50*) ao local-chave de toxicidade;
- (iii) necessidade de considerar, no caso da matéria orgânica, os diferentes $\log K$ para os múltiplos locais de ligação do metal;
- (iv) estudar melhor os efeitos dos sulfetos na prevenção da toxicidade, já que os únicos estudos foram feitos para Ag (Bianchini e Bowles, 2002).

Batley *et al.* (2004) apresentam uma revisão dos avanços ocorridos nos últimos vinte anos nos estudos sobre especiação de metais e biodisponibilidade. Biodisponibilidade é definido como a capacidade de um metal ser transportado até a membrana biológica e presumivelmente atravessá-la. Um modelo atualmente aceito sobre biodisponibilidade é apresentado na figura 3.11.

Os extremos deste modelo são: a) a taxa de internalização do metal de um lado para outro da superfície biológica é relativamente lenta comparada à taxa de difusão na superfície da célula, e o metal rapidamente entra em pseudo-equilíbrio com o metal na solução total (biodisponibilidade do metal sob controle termodinâmico); e b) a taxa de internalização é rápida comparativamente à taxa de difusão das espécies metálicas na superfície da célula. Sob estas condições, existe um gradiente de concentração em volta

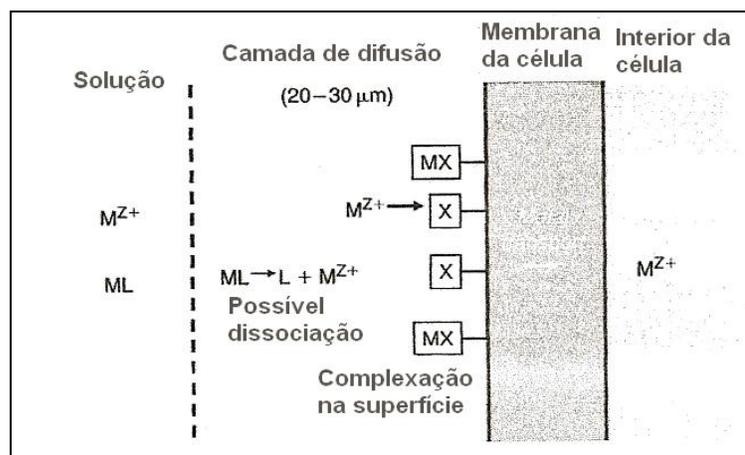


Figura 3.11 – Modelos de carregamento de metais numa célula biológica (Batley *et al.*, 2004)

da superfície da célula, e os complexos metálicos podem se dissociar para se contraporem a perturbações locais ao equilíbrio. Nesta situação, a biodisponibilidade é controlada por fatores cinéticos. O entendimento de qual fator é predominante, isto é, termodinâmico ou cinético, é essencial na determinação de qual procedimento de medição da especiação deveria ser utilizado. No primeiro caso, é recomendada a medição das concentrações de equilíbrio do íon metálico livre (ou outras espécies que se ligam aos locais de recepção). Em situações mais dinâmicas, a biodisponibilidade seria melhor estimada por meio da medição da concentração da fração biodisponível do metal. Esta fração considera as espécies metálicas que se dissociam ao longo do tempo em que se encontram na camada de borda de difusão em torno do organismo.

Playle (2004) faz uma consideração sobre o fato de que os modelos tipo *BLM* foram desenvolvidos considerando apenas um metal individualmente, mas que misturas de metais são comuns no ambiente. Desta forma, ele desenvolveu modelos para interações metal-ligante, considerando de dois a seis metais, e testou seus diferentes comportamentos em relação ao conceito de unidade tóxica ou "TU" (*toxic unit*). Foi assumido que, quando metade dos locais de ligação nos ligantes são preenchidos por um metal, metade dos organismos morrem (*LA50, lethal accumulation*; Paquin *et al.*, 2002), e que a concentração de um metal na água em que ocorre esta mortalidade é definida como *LC50*, a qual foi tomada como unidade tóxica ou "TU" (*toxic unit*). A conclusão obtida foi de que os modelos para múltiplos metais comportam-se de forma previsível mas

não-linear em concentrações relativamente baixas de matéria orgânica. Estes modelos calculam uma aditividade maior que a estrita em baixas concentrações de metais ($\Sigma Me < 1 TU$), devido à não linearidade dos modelos (ex: “fácil” preenchimento dos locais de ligação em baixas concentrações metálicas); em altas concentrações metálicas ($\Sigma Me > 1 TU$), o modelo calcula uma aditividade menor que a estrita, devido em parte à sua não linearidade, mas principalmente devido à competição entre os metais pelos locais de ligação; em concentrações intermediárias ($\Sigma Me = 1 TU$), aplica-se a aditividade estrita.

Slaveykova e Wilkinson (2005) fizeram uma análise crítica do *BLM*. Segundo estes autores, um estudo acurado da biodisponibilidade de metais-traço depende dos diferentes fluxos (difusivo, internalização, dissociação, etc.), de acordo com a figura 3.12. A magnitude dos fluxos irá variar de acordo com a natureza química dos compostos sendo acumulados, o tamanho e tipo de organismo e a natureza físico-química do meio, dentre outros fatores. Isto posto, o *FIAM* e o *BLM* seriam estritamente aplicáveis somente para determinadas situações, que abrangeriam, dentre outras, as seguintes características:

- (i) a membrana biológica é o local primário de interação do metal-traço com os organismos, e é considerada quimicamente homogênea;
- (ii) o transporte de massa em direção à membrana biológica não é limitante (camadas de difusão podem ser desconsideradas);
- (iii) a constante de dissociação $M-R_s$ tem o mesmo valor dos dois lados da membrana (R_s - membrana biológica, local de ação tóxica).

Os autores concordam que o *BLM* tem se mostrado útil na predição dos efeitos de metais sobre a biota aquática e no entendimento do mecanismo de interação com a superfície biológica, mas que pesquisas adicionais têm que ser conduzidas em relação aos seguintes aspectos: a) melhor entendimento e quantificação da relação entre bioacumulação e toxicidade; b) melhor entendimento sob quais circunstâncias os modelos dinâmicos se prestam adequadamente na predição de fenômenos como transporte de massa, adsorção e outros); c) determinação de concentrações (e atividades) do ligante biótico; d) estabelecimento de uma relação entre complexos que transportam metais, fluxos de acumulação e concentração total dos metais no ligante biótico; e) modificação

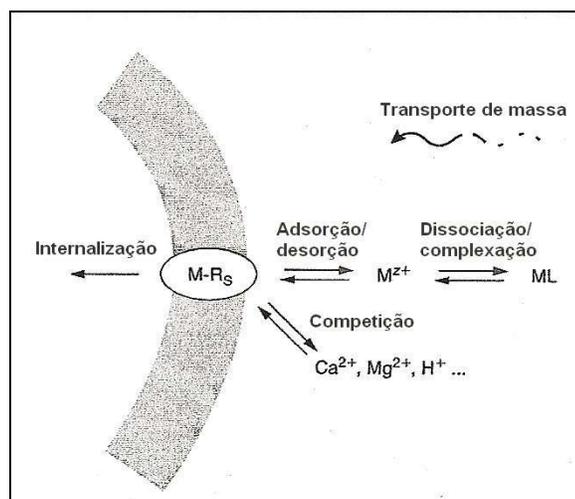


Figura 3.12 – Modelo conceitual de processos físico-químicos envolvidos no carregamento de metais em microrganismos aquáticos (Slaveykova e Wilkinson, 2005)

do *BLM*, de modo que este leve em conta o caso ambientalmente mais relevante da exposição de metais do *BLM*, de modo que este leve em conta o caso ambientalmente mais relevante da exposição de metais em baixas concentrações e de forma crônica;f) identificação e quantificação de outras importantes fontes de acumulação de metais (ex: dieta do organismo).

Schwartz e Vigneault (2007) desenvolveram e testaram um modelo *BLM* para toxicidade crônica de cobre em *Ceriodaphnia dubia*. Os efeitos da competição catiônica, pH e complexação de matéria orgânica para cobre foram utilizados para desenvolver o modelo. Este foi validado considerando a *IC25* (concentração que causa 25% de inibição na reprodução), gerado com amostras de seis águas de superfície naturais coletadas no Canadá. *WHAM VI* foi utilizado para calcular a especiação do cobre em cada água natural. O *IC25* previsto foi obtido com sucesso, dentro de uma faixa de 3 vezes em relação ao *IC25* obtido em laboratório.

De Schampelaere *et al.* (2007) estudaram o efeito do sódio na toxicidade aguda para cobre, em organismos aquáticos, e concluíram que, ao contrário do que prediz o *BLM*, um limite superior de proteção foi observado para algumas populações, em concentrações de Na maiores que 4 mM. Isto sugere que outros processos, além da simples competição

Cu-Na no ligante biótico, podem estar envolvidos na toxicidade do cobre, sendo necessário um melhor entendimento para o refinamento do *BLM*.

Borgmann *et al.* (2008) modelaram a bioacumulação e a biodisponibilidade de misturas de metais e concluíram que o *BLM* deve ser utilizado com cautela neste caso. A toxicidade total dos metais pode ser do tipo “cumulativa (aditivo)”, previsível a partir de suas concentrações individuais, mas esta é a mais simples das interações a serem modeladas, representando apenas uma das múltiplas possibilidades.

Kamo e Nagai (2008) também estudaram a aplicação do *BLM* para misturas de metais. Segundo os autores, os mecanismos tóxicos de metais “pesados” não são completamente compreendidos, mas a hipocalcemia é sugerido como o mais provável para alguns destes. O *BLM* foi modificado para prever a toxicidade pela proporção de não-metais que está disponível para a acumulação de cálcio, considerando a hipótese de que os organismos morrem devido à hipocalcemia, quando alguns poucos ligantes estão disponíveis para receber este elemento. Já que a proporção entre múltiplos metais pode ser computada, podem ser também preditos os efeitos tóxicos das misturas. A toxicidade de zinco, cobre e cádmio para a “truta arco-íris” (*Oncorhynchus mykiss*) foi considerada, utilizando vários dados da literatura. A proporção não é influenciada pela química da água ou pelas espécies metálicas. Usando uma proporção constante, foram calculadas as toxicidades dos metais. Os efeitos tóxicos das misturas foram considerados como a soma simples da toxicidade de cada metal (efeito aditivo), correspondentes às suas formas biodisponíveis. Em termos de concentração total de metais em água, porém, efeitos não-aditivos, como antagonismo e sinergismo, são possíveis.

Ryan *et al.* (2009) estudaram a influência do pH, dureza, concentração de carbono orgânico dissolvido e natureza da matéria orgânica na toxicidade aguda para cobre (*Daphnia magna*) em águas de baixa dureza nos EUA. Concentração de matéria orgânica e pH tiveram influência significativa nos resultados (atenuante). Setenta por cento dos dados situaram-se dentro da faixa de aceitação, na correlação entre resultados medidos e previstos pelo modelo. De qualquer forma, são sugeridos alguns ajustes no modelo, para melhoria de sua performance (calibração de constantes de ligação complexos-ligante biótico).

CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Procedimentos de campo

Foram realizadas 3 campanhas de amostragem, abrangendo o ciclo hidrológico, nas épocas de seca e de chuvas (agosto/2006, janeiro/2007 e julho/2007). Em cada campanha, foram coletadas amostras de água em 3 pontos na área da Mina do Sossego e em 3 pontos na área do Projeto Salobo, conforme mapas apresentados nas figuras 4.1 e 4.2.

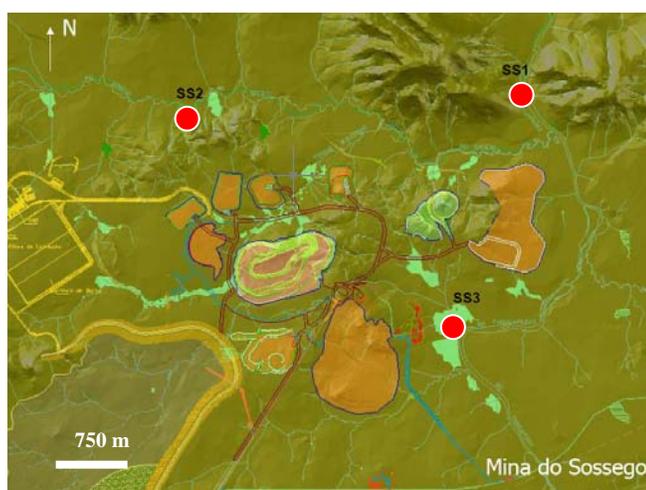


Figura 4.1 – Pontos de amostragem na Mina do Sossego

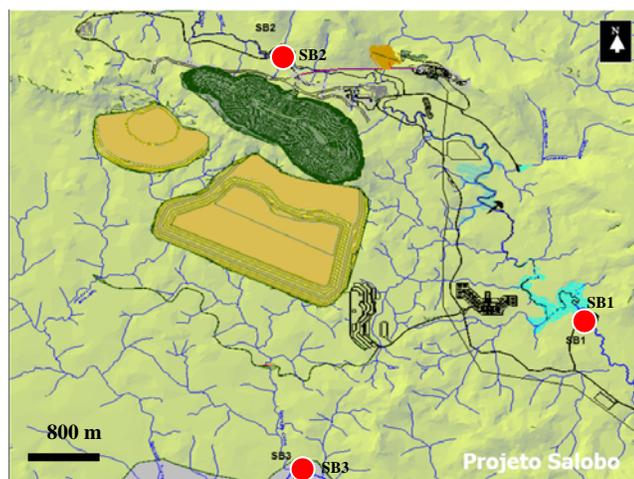


Figura 4.2 – Pontos de amostragem no Projeto Salobo

A Mina do Sossego é um empreendimento para lavra e beneficiamento de minério de cobre já em operação, isto é, a área já vem sofrendo os impactos ambientais associados a esta atividade, ao passo que a área do Projeto Salobo permanecia praticamente intocada, já que as obras de implantação ainda não haviam sido iniciadas. Os pontos em cada área foram selecionados considerando sua posição geográfica, isto é, proximidade e localização (jusante/montante) em relação a estruturas que podem gerar impacto ambiental de alteração na qualidade das águas (ex: pilhas de minério/estéril, diques de contenção de finos, barragens de rejeito).

Na área da Mina do Sossego foram selecionados os seguintes pontos:

- (i) SS1: Rio Parauapebas, a jusante da confluência com o Igarapé Sossego e de toda a área diretamente afetada pelo empreendimento;
- (ii) SS2: Igarapé Sossego, a montante do empreendimento, mas recebendo a influência de drenagens que fluem da área diretamente afetada pelo mesmo;
- (iii) SS3: Rio Parauapebas, a montante da confluência com o Igarapé Sossego e mais próximo da área diretamente afetada pelo empreendimento.

Na área do Projeto Salobo foram selecionados os seguintes pontos:

- (i) SB1: Igarapé Salobo, a jusante da área diretamente afetada pelo empreendimento e próximo a uma futura barragem de contenção de finos;
- (ii) SB2: Igarapé Salobo, a montante do ponto anterior e mais próximo da área diretamente afetada pelo empreendimento, em especial da futura barragem de rejeitos;
- (iii) SB3: Rio Cinzento, numa outra sub-bacia, a sul do empreendimento, e a cerca de 3 km de distância de uma futura barragem de contenção de finos, cuja drenagem flui em direção ao ponto.

A Tabela IV.1, a seguir, apresenta as coordenadas UTM dos pontos de amostragem:

Tabela IV.1 – Coordenadas dos pontos de coleta de amostras de água

PONTO DE COLETA	COORDENADAS UTM
SS1 - Sossego	9.292.644 N/606.570 E
SS2 - Sossego	9.292.346 N/602.338 E
SS3 - Sossego	9.289.590 N/605.869 E
SB1 - Salobo	9.356.226 N/556.280 E
SB2 - Salobo	9.361.172 N/551.201 E
SB3 - Salobo	9.353.290 N/551.440 E

O Anexo I mostra uma seqüência de fotos tomadas durante a realização dos trabalhos de campo para coleta das amostras de água.

A coleta e preservação foram realizadas de acordo com a norma *ABNT - NBR 9898 – (1987) - Preservação e Técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores*, que recomenda os tipos de frascos a serem utilizados, o preenchimento dos mesmos, o volume das amostras, o período entre a coleta e a análise e o tipo de preservação.

Em cada ponto de amostragem foram feitas as seguintes coletas de amostras de água:

I- 20 L, para ensaios de toxicidade;

II- 1 L (cada frasco), para análises de:

- (i). metais totais (Ca, Mg, Cu, Na, K, Mn, Fe, Al); preservação com ácido nítrico
- (ii). metais dissolvidos (Ca, Mg, Cu, Na, K, Mn, Fe, Al); filtragem e preservação com ácido nítrico *in situ*
- (iii). sólidos totais e em suspensão; *in natura*
- (iv). sulfetos; preservação com acetato de zinco e NaOH
- (v). alcalinidade de bicarbonatos, alcalinidade de carbonatos, alcalinidade total, cloretos, nitrato e sulfato; *in natura*

III- 100 mL, para análise de carbono orgânico dissolvido; filtragem e preservação com ácido sulfúrico *in situ*.

Todas as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e preservadas também por refrigeração, desde o momento da coleta até a chegada ao laboratório.

A filtração para análise de metais dissolvidos e carbono orgânico foi feita em campo, utilizando-se seringas hipodérmicas (50 ml) e filtros de membrana (0,45 µm). Os parâmetros medidos em campo (*in situ*) foram pH, condutividade, temperatura e Eh. Os três primeiros foram medidos utilizando-se o instrumento WTW, modelo MULTI 340 i e o Eh utilizando-se o instrumento HANDYLAB, modelo 1 SCHOTT. Em todos os dias, antes das medições, foram feitas as devidas calibrações dos instrumentos, com utilização das soluções-padrão (para pH, soluções-tampão – pH 4 e 7).

4.2 Procedimentos de laboratório

Os parâmetros de laboratório foram selecionados por sua importância para uma caracterização convencional de amostras de água, pelo fato de serem facilmente mensuráveis em laboratório e, o mais importante, por serem os requeridos pelo modelo *BLM*. O cobre, naturalmente, é o metal objeto do estudo.

As análises químicas de todos os parâmetros mencionados anteriormente, com exceção de carbono orgânico dissolvido, foram realizadas no laboratório SGS-Geosol, em Belo Horizonte, conforme os métodos descritos em *Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005)*:

- i. Metais totais e dissolvidos: SMEWW 3030B e 3120 B (ICP)
- ii. Alcalinidade bicarbonato e carbonato: SMEWW 2320 B (titulometria H₂SO₄)
- iii. Alcalinidade total: SMEWW 2320 B (titulometria H₂SO₄)
- iv. Cloreto: SMEWW 4500Cl B (titulometria)
- v. N.Nítrico (nitrito): SMEWW 4500NO₃ B – espectrometria ou colorimetria
- vi. Sulfato: 4500SO₄ E (turbidimetria BaCl₂)
- vii. Sulfetos: SMEWW 4500 – S₂. D (colorimetria – azul de metileno)
- viii. Sólidos totais e em suspensão: SMEWW 2540 - gravimetria

Neste laboratório, utilizou-se análise em duplicata de sólidos suspensos (erro médio de 4.69%) e de brancos do próprio laboratório, para controle de qualidade.

Diante das baixas concentrações do metal de interesse nesta pesquisa, na segunda e terceira campanhas de campo as análises de cobre total e dissolvido foram também realizadas através de espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS) - Perkin Elmer Elan 9000 no Laboratório de Processamento Aquoso do Departamento de Metalurgia e Materiais da UFMG (DEMET/UFMG), em Belo Horizonte. Nestes casos, o laboratório SGS-Geosol separou uma alíquota das amostras enviadas para as análises de metais totais e dissolvidos, para encaminhamento ao laboratório do DEMET/UFMG.

As amostras filtradas para determinação de carbono orgânico dissolvido foram encaminhadas para o Laboratório de Processamento Aquoso do Departamento de Metalurgia e Materiais da UFMG (DEMET/UFMG), em Belo Horizonte, e analisadas em um equipamento *Shimadzu*, modelo *TOC-VCSN*. A análise de carbono total (TC) baseia-se na oxidação ou decomposição de todo carbono contido na amostra, a CO_2 , no tubo de combustão, a 680°C . A medição do carbono inorgânico (IC) baseia-se em acidificação e decomposição dos carbonatos a CO_2 , que é purgado com o O_2 e analisado. O carbono orgânico é obtido pela diferença entre TC e IC.

4.3 Ensaaios toxicológicos

4.3.1 Introdução

Estes ensaios foram realizados para avaliação de toxicidade aguda e crônica do cobre nas amostras de água coletadas em campo, tendo sido realizados nos laboratórios TECAM – Tecnologia Ambiental, em São Paulo. Os ensaios de toxicidade aguda avaliam uma resposta severa e rápida dos organismos aquáticos a um estímulo que se manifesta, em geral, num intervalo de 48 horas. Normalmente, o efeito observado é a letalidade ou outra manifestação do organismo que a anteceda, como o estado de imobilidade em alguns microcrustáceos.

Para avaliar os efeitos agudos dos agentes tóxicos em testes de toxicidade usa-se, geralmente, a concentração efetiva (CE50) que causa mortalidade ou imobilidade a 50% dos organismos-teste. Assim, a exposição a uma concentração de agentes tóxicos, mesmo que por curto período de tempo, pode causar efeitos deletérios aos organismos

aquáticos pertencentes a diferentes níveis tróficos, embora o senso comum relacione a toxicidade apenas a mortandade de peixes.

Os ensaios de toxicidade crônica, por sua vez, avaliam a ação das substâncias cujo efeito traduz-se pela resposta a um estímulo que continua por longo tempo, geralmente por período que vai de 1/10 do ciclo vital até à totalidade da vida do organismo. De modo geral, porém não exclusivo, esses efeitos são sub-letais e observados em situações em que as concentrações do agente tóxico permitem sua sobrevivência, mas afetam uma ou várias de suas funções biológicas, interferindo, por exemplo, na reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento, maturação e comportamento em geral. No ambiente aquático, observam-se os efeitos crônicos quando substâncias com alguma toxicidade são lançadas continuamente nos corpos receptores. Desta forma, os organismos podem se expor a estas concentrações por longos períodos de tempo, ocasionando efeitos crônicos a níveis sub-letais e até mesmo letais.

4.3.2 Organismo-teste

O organismo (bioindicador) utilizado nos ensaios foi a *Ceriodaphnia dubia*. As chamadas “pulgas d’água”, tanto a *Daphnia* como a *Ceriodaphnia*, são microcrustáceos comumente encontrados em ambiente fluvial de países de clima temperado, tendo espécies similares no Brasil. Medem cerca de 0,1 a 5,0 mm de comprimento e possuem uma carapaça transparente do tipo bivalve. Em condições naturais, alimentam-se basicamente de algas, bactérias, protozoários e de uma grande variedade de detritos orgânicos, os quais são capturados através de seu sistema de filtragem. Por meio de vários mecanismos complexos, as partículas alimentares coletadas são transferidas para um sulco alimentar meio-ventral, onde são envolvidas em muco e depois movidas para frente até as maxilas, que empurram o alimento para o interior da boca.

A locomoção das “pulgas d’água” é efetuada principalmente através das segundas antenas birremes que funcionam como se fossem remos. O movimento é predominantemente vertical e aos pulos, justificando a denominação popular. Os olhos compostos e sésseis encontram-se fundidos em um único olho mediano rotacionável e é utilizado para orientar o animal na natação. As trocas gasosas são efetuadas por

estruturas especializadas, situadas nos apêndices do tronco, denominadas brânquias. A presença da hemoglobina depende frequentemente da concentração de oxigênio existente no meio, de forma que os animais tornam-se incolores em águas bem aeradas e alaranjados em águas estagnadas.

O coração dos cladóceros é um pequeno saco globular com somente um par de óstios, o qual repousa dorsalmente na parte anterior do tronco. O sistema arterial restringe-se a uma curta aorta anterior não ramificada. Sua reprodução, em condições normais, ocorre por partenogênese, ou seja, assexuadamente, como em muitos rotíferos. Os ovos diplóides partenogénéticos eclodem dando origem a fêmeas, podendo uma única fêmea produzir uma sucessão de gerações. O desenvolvimento é direto e o jovem (neonata), deixa a câmara incubadora e passa a viver independentemente. Porém, condições desfavoráveis (tais como alterações de temperatura, escassez de alimento, superpopulação, entre outros fatores) provocam o aparecimento de machos.

Com o surgimento de machos, ocorre a reprodução sexuada, originando um ovo de resistência chamado efípio. Os efípios flutuam, afundam ou aderem a objetos, podendo suportar o ressecamento, o congelamento e até as enzimas digestivas. Conseqüentemente, os ovos eclodem rapidamente quando encontram as condições ideais, dando origem a uma fêmea que reinicia o ciclo partenogénético. Por meio destes ovos ocorre a dispersão e a perpetuação dessas espécies.

Para a primeira campanha de amostragem foram realizados apenas ensaios de toxicidade crônica para as seis amostras coletadas, pois o método para realização dos trabalhos ainda estava sendo consolidado. Nas segunda e terceira campanhas foram realizados ensaios tanto agudos como crônicos.

4.3.3 Método para ensaios de toxicidade aguda

Os ensaios foram realizados durante um período de quarenta e oito horas. Ao término dos testes, foi estimada a concentração nominal das amostras que causou imobilidade a 50% dos organismos, nas condições teste - CE50; 48h. O método utilizado para a realização

do ensaio está descrito no *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms* (USEPA, 2002).

O princípio do método consiste na exposição de organismos jovens a várias diluições da amostra (soluções-teste). Para cada diluição devem ser adicionados no mínimo 20 organismos, distribuídos em pelo menos duas replicatas. Após 48 horas, registra-se o número de organismos móveis e o maior percentual de imobilidade, para determinação do CE50. A água de diluição utilizada para a realização dos ensaios foi coletada nos diferentes pontos de amostragem (água de rio). Para o controle também foram utilizadas as amostras de água de rio. Controle adicional foi feito com amostras de água de represa (água padrão). Os testes foram do tipo estático, isto é, sem renovação periódica do meio (água).

Para cada amostra foi preparada inicialmente uma solução-estoque com o reagente sulfato de cobre pentaidratado P.A. ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), marca F. Maia Indústria e Com. Ltda., na concentração 100,0 mg/L. A partir desta, foi preparada outra solução-estoque (10,00 mg/L), e a partir da menor solução-estoque foram feitas as diluições utilizadas nos testes (0,075; 0,150; 0,300; 0,600; 1,200 mg/L Cu). Todas as soluções foram preparadas com as amostras de água de rio coletadas nos pontos de amostragem.

Jovens com 6 a 24 horas de idade foram selecionados da cultura isolada 24 horas antes do início do teste. Foram colocados cinco jovens do organismo-teste (*C. dubia*) em cada béquer com 25mL de solução-teste e um controle com água de rio, com quatro réplicas em cada concentração. Adicionalmente, foi preparado um controle com água de represa do Tecam, utilizada para o cultivo dos organismos (água padrão). Após 48 horas de exposição, foram contados os animais imóveis em cada béquer. São considerados imóveis os animais incapazes de nadar durante um período de 15 segundos de observação, após agitação leve do frasco, e também os aprisionados na superfície da água, mesmo que móveis. No início e no final dos testes foram realizadas medições de pH e teor de oxigênio dissolvido da água padrão, da água de diluição e de três concentrações preparadas. Valores de oxigênio dissolvido inferiores a 1,0 mg/L e pH fora da faixa de 5 a 9 podem interferir no resultado do ensaio, mas isto não ocorreu em nenhum momento. Além dessas análises, foi também determinada a dureza total das

amostras de água, para comparação com os resultados obtidos no laboratório SGS-GEOSOL e posterior interpretação dos resultados dos bioensaios, verificando possíveis correlações.

A concentração efetiva inicial mediana após 48 horas de exposição – CE50; 48h – e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método *Spearman-Kärber* modificado (Hamilton *et al.*, 1977), que consiste num método estatístico apropriado para este tipo de cálculo.

4.3.4 Método para ensaios de toxicidade crônica

Estes ensaios avaliaram os efeitos sobre a sobrevivência e reprodução da *C. dubia* exposta a diferentes concentrações da substância, durante um período de 7 dias. Ao término dos testes foram estimadas a concentração de efeito não observado (CENO – concentração mais elevada que não causa efeitos deletérios aos organismos) e a concentração de efeito observado (CEO – concentração mais baixa que causa efeitos deletérios).

O método utilizado para a realização dos testes seguiu os procedimentos da ABNT (2005) e *U.S. Environmental Protection Agency (USEPA, 2002)*, descrita a seguir. Para cada amostra foi preparada inicialmente uma solução-estoque com o reagente sulfato de cobre pentaidratado P.A. ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), marca F. Maia Indústria e Com. Ltda., na concentração 100,0 mg/L. A partir desta, foram preparadas duas outras soluções-estoque (10,00mg/L e 1,00mg/L), e a partir destas foram feitas as diluições utilizadas nos testes (0,005; 0,009; 0,019; 0,038; 0,075; 0,150 mg/L Cu). Todas as soluções foram preparadas com as amostras de água de rio coletadas nos pontos de amostragem. Organismos jovens com 6 a 24 horas de idade foram selecionados da cultura isolada 24 horas antes do início do teste. Em cada béquer foi colocado um organismo jovem e 20 mL de solução-teste ou água de rio (controle), com 10 réplicas para cada tratamento. Os animais foram alimentados diariamente durante o período do teste com alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e ração de peixe fermentada. Adicionalmente, foi preparado um controle com água de represa do Tecam, utilizada para o cultivo dos organismos (água padrão).

Os testes foram realizados em sistema semi-estático (troca de soluções a cada 48 horas aproximadamente). Ao serem transferidos para as novas soluções-teste, os animais foram observados quanto à mortalidade e ao número de jovens produzidos por animal. Ao final do teste, os animais que não produziram descendentes foram observados sob estereomicroscópio, para determinação do sexo. Os machos, quando presentes, foram excluídos das análises estatísticas de reprodução. Para cada novo preparo de soluções foram realizadas análises de pH, condutividade e teor de oxigênio dissolvido, além da dureza total das amostras e da água de diluição no início do teste.

As análises estatísticas utilizadas para a determinação dos parâmetros CENO e CEO foram as seguintes:

- i. Teste F e t (Zar, 1999), para comparação da reprodução do controle com água de represa (Tecam) com os demais controles com amostras de água de rio
- ii. Prova Exata de Fisher (Zar, 1999), para comparação da mortalidade do controle com a das demais soluções-teste
- iii. Teste de Normalidade do Chi-Quadrado (USEPA, 2002)
- iv. Teste de Bartlett, para homogeneidade de variância (USEPA, 2002)
- v. Teste de Williams (Gelber et al., 1985; Williams, 1971, 1972), para comparação da reprodução média do controle com a das demais soluções-teste

O Anexo II mostra algumas fotos tomadas durante a realização dos ensaios toxicológicos no laboratório TECAM, além de uma imagem de *Ceriodaphnia dubia*.

4.4 Utilização do modelo *BLM*

O *Biotic Ligand Model (BLM)* é um *software* que pode ser utilizado para calcular a especiação química de um metal dissolvido, incluindo a complexação com ligantes orgânicos, inorgânicos e bióticos (HydroQual, 2007). O ligante biótico representa um receptor discreto ou um local de ação em um organismo, onde a acumulação de um metal tem como resultado a toxicidade. O *BLM* pode assim ser utilizado para prever a acumulação de metal neste local, a partir de sua concentração na água e de sua especiação química.

De acordo com a estrutura conceitual do *BLM*, a acumulação de um metal ao ligante biótico, a partir de uma determinada concentração (*threshold*), conduz à toxicidade. Esta acumulação crítica no ligante biótico é chamada de *LA50*, isto é, a acumulação letal de um metal que resulta em 50% de mortalidade em uma exposição toxicológica. A *LA50* é expresso na unidade $\text{nmol/g}_{\text{peso úmido}}$ do ligante biótico. Desde que o *BLM* inclui a especiação química do metal, sua complexação e competição com outros metais (ex: Ca, Na, Mg) no ligante biótico, a quantidade de metal dissolvido necessária para atingir o *threshold* (*LA50*) irá variar, dependendo das características físico-químicas da água. Portanto, além de calcular a especiação química, o *BLM* também pode ser utilizado para prever a concentração de metal que resultará em toxicidade, num determinado sistema aquático.

A versão utilizada do (*BLM*) foi obtida diretamente da *internet*, no site <http://www.hydroqual.com/blm>. Esta versão é de Junho de 2007 (*Biotic Ligand Model Windows Interface, Version 2.2.3*). É muito importante ressaltar que esta versão foi desenvolvida e calibrada considerando apenas ensaios para toxicidade aguda.

A figura 4.3 mostra a tela de abertura do programa. Como pode ser observado, as informações sobre qualidade da água que devem preenchidas nesta tela, para rodar o programa, são: temperatura; pH; carbono orgânico dissolvido; cátions principais (Ca, Mg, Na e K); ânions principais (SO_4 e Cl); alcalinidade; e sulfetos. O campo "HA" refere-se à fração de ácido húmico do carbono orgânico dissolvido (*Humic Acid Fraction of DOC*).

O *BLM* utiliza o *Windermere Humic Aqueous Model (WHAM, Version 1.0)* para modelar a interação entre metais e a matéria orgânica, sendo que este modelo leva em consideração a presença tanto de ácidos húmicos como fúlvicos. Desta forma, é necessário especificar a porcentagem de cada uma destes tipos. Infelizmente, esta caracterização não é feita de forma rotineira e, na ausência desta classificação, um valor de 10% para o conteúdo de ácidos húmicos é o recomendado para a maioria das águas naturais, tendo sido utilizado para as simulações de toxicidade aguda e também crônica (Aiken, 1985).

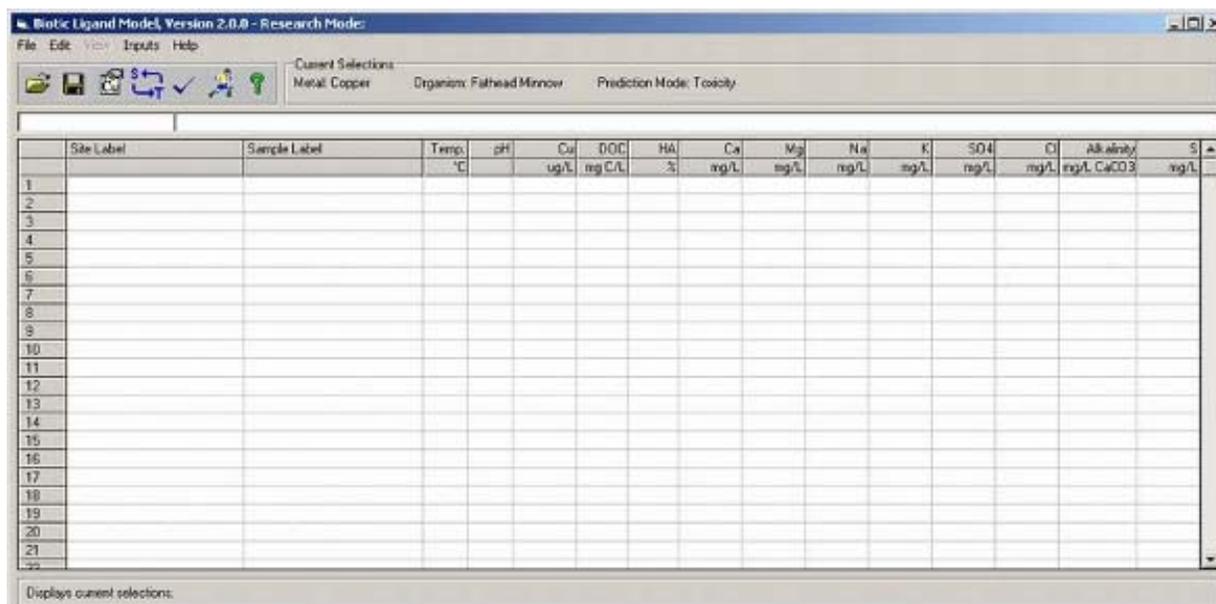


Figura 4.3 – Tela de abertura do programa *BLM*

Pesquisa bibliográfica foi realizada com o objetivo de buscar mais informações sobre conteúdo e composição de matéria orgânica dissolvida em água, na região amazônica, de forma a permitir a utilização do modelo *BLM* com parâmetros ajustados e consistentes. Pouquíssimos dados estão disponíveis. Benedetti *et al.* (2002) estudaram a matéria orgânica natural nos rios Amazonas e Negro e verificaram características diferentes, dependendo do local, sendo o carbono coloidal do Rio Amazonas predominantemente do tipo fúlvico, enquanto que as frações particuladas e coloidais do Rio Negro são predominantemente do tipo húmico. No primeiro caso, a relação FA/HA pode chegar até a 5,17. De qualquer forma, a variabilidade do conteúdo da matéria orgânica dissolvida em diferentes tipos de água não é considerado um parâmetro crítico para o modelo e poucos benefícios são alcançados por meio de sua caracterização, além das concentrações do carbono orgânico dissolvido (*HidroQual*, 2007). Esta premissa pode ser justificada pelo fato de que, na natureza, a matéria orgânica não ocorre fracionada em ácidos húmicos e fúlvicos, e sim em conjunto.

Após o preenchimento de todos os campos, foi feita a seleção das unidades utilizadas para os diferentes parâmetros, conforme exemplo mostrado na figura 4.4.

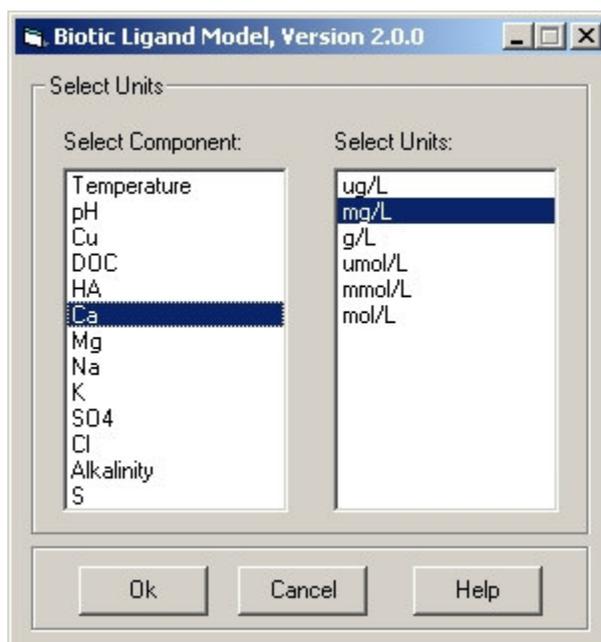


Figura 4.4 – Tela do *BLM* utilizada para seleção das unidades dos diferentes parâmetros

Antes de utilizar o programa, foi feita a seleção do elemento químico considerado nos estudos (cobre) e também do organismo utilizado nos ensaios de toxicidade (*C. dubia*), conforme exemplo mostrado na figura 4.5.

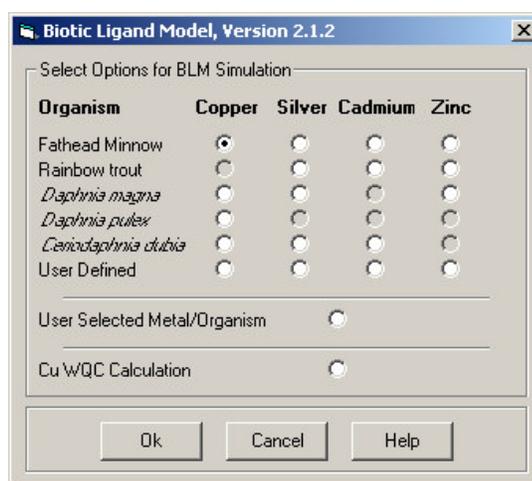


Figura 4.5 – Tela do programa *BLM* utilizada para seleção do organismo e do elemento

Considerando que o programa foi originalmente desenvolvido e calibrado para ensaios agudos, foi necessário fazer as calibrações e ajustes para ensaios de toxicidade crônica.

Neste caso, seguiu-se as orientações do pesquisador Dr. Karel De Schamphelaere, incorporando alguns arquivos à atual versão do *BLM* e selecionando a opção “user selected metal/organism”, conforme mostrado na figura 4.5. O Dr. Karel De Schamphelaere realizou diversos estudos e apresentou vários trabalhos sobre toxicidade aguda e crônica. Em De Schamphelaere e Jansen (2004a) foram apresentados estudos para desenvolvimento e validação de campo do *BLM*, na predição de toxicidade crônica em *Daphnia magna*. Dos três modelos testados, o “modelo 3” foi o que apresentou melhor capacidade de predição. As orientações repassadas pelo Dr. Karel De Schamphelaere para este trabalho foram baseadas neste “modelo 3”, especialmente naquilo que se refere aos valores de log K para ligações de alguns compostos de cobre e de outros metais com o ligante biótico, e também para um valor crítico da concentração de Cu no ligante biótico do organismo-teste (“sensibilidade” ou *LA50*). Como este valor crítico foi obtido para *Daphnia magna*, foi necessário ajustá-lo, considerando que o organismo utilizado nos ensaios foi a *Ceriodaphnia dubia*. Este ajuste foi feito de forma empírica, isto é, alterou-se o seu valor, sequencialmente, até que viesse a ser obtida uma boa correlação entre resultados medidos e previstos. Além disto, foram feitas também outras simulações, variando-se a concentração de matéria orgânica e a porcentagem de ácido húmico (em relação ao ácido fúlvico), até que se obtivesse os gráficos mais consistentes de correlação entre toxicidade medida e prevista para os ensaios crônicos. Neste trabalho, os resultados mais consistentes foram obtidos quando considerou-se a concentração total de carbono orgânico dissolvido (e não uma fração desta), 10% de ácidos húmicos e 10 nmol/g_w como concentração crítica de cobre no ligante biótico.

Outra consideração muito importante a ser feita na utilização do *BLM* para ensaios de toxicidade crônica refere-se aos parâmetros obtidos em laboratório. Os resultados destes ensaios foram expressos segundo CENO – concentração de efeito não observado (concentração mais elevada que não causa efeitos deletérios aos organismos) e CEO - concentração de efeito observado (concentração mais baixa que causa efeitos deletérios). Como CENO e CEO são obtidos por meio de tratamentos estatísticos de variabilidade, a partir de um valor de concentração de teste pré-estabelecido, neste caso podem ser considerados como padrões “tendenciosos” e inadequados para o modelo *BLM*, pois não são medidas pontuais, obtidas a partir de uma curva concentração-efeito (Di Toro *et al.*, 2001). Assim, foi necessário “converter” os valores de CENO e CEO para outros valores

que não dependiam de análise estatística de variabilidade, a partir dos dados brutos obtidos nos ensaios. Os parâmetros CI50 ou CI25 (concentração de inibição mediana) avaliam a concentração da amostra que causa inibição em 50% ou 25% da população testada, para ensaios crônicos. Esta inibição pode ser crescimento, reprodução ou outro parâmetro. Um bom exemplo está apresentado em Schwartz e Vigneault (2007).

Com o objetivo de converter os parâmetros CENO e CEO, a partir dos dados brutos, para CI25 e CI50, foi utilizado o software ICp 2.0 (*Inhibition Concentration Approach*), desenvolvido pela EPA - U.S. Environmental Protection Agency. Este programa faz a interpolação linear dos dados brutos e gera os valores de concentração de inibição. Neste estudo, foram considerados os resultados da concentração de inibição para a reprodução de 50% dos organismos (CI50), porque sua correlação com os valores previstos foi melhor.

CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros físico-químicos

Os laudos das análises químicas estão apresentados no Anexo III, assim como uma tabela-resumo de todos os parâmetros físico-químicos medidos em campo e em laboratório. No caso das análises para carbono orgânico, onde lê-se carbono orgânico total (TOC), entenda-se carbono orgânico total dissolvido, já que a amostra enviada para análise foi filtrada em campo (membrana 0,45 µm).

A figura 5.1 mostra gráficos dos resultados dos parâmetros físico-químicos coletados em campo e a figura 5.2 gráficos dos resultados dos parâmetros químicos medidos em laboratório, incluindo o cobre dissolvido, em três campanhas de campo, para três pontos de coleta em cada área.

Conforme pode ser observado na figura 5.1, os valores do parâmetro condutividade elétrica na área da Mina do Sossego foram sempre maiores do que aqueles na área do Projeto Salobo, indicando que a atividade de mineração proporcionou uma maior solubilização de cátions e ânions para os cursos d'água da região. Esta situação pode ser comprovada também por meio da análise dos valores de pH, alcalinidade, cloreto, Mg, Ca, Na, K, sulfato e carbono orgânico dissolvido (figura 5.2), em geral maiores nas amostras coletadas na área da Mina do Sossego. As principais exceções para esta situação ocorreram no ponto SS2, que apresentou valores de alguns parâmetros menores do que aqueles para os pontos da área do Projeto Salobo. O ponto SS2 está situado no Igarapé Sossego, a montante da área da mina, e pode ser considerado um ponto de referência (*background*) para a área, por sua situação geográfica menos vulnerável aos impactos do empreendimento.

Na segunda campanha, os valores de cobre dissolvido variaram entre 2,5 e 5,0 µg/L nas amostras da Mina do Sossego, e entre 1,4 e 2,9 µg/L nas amostras do Projeto Salobo. Na terceira campanha, os valores de cobre dissolvido variaram entre 6,2 e 25,8 µg/L nas amostras da Mina do Sossego e entre 2,8 e 3,7 µg/L nas amostras do Projeto Salobo.

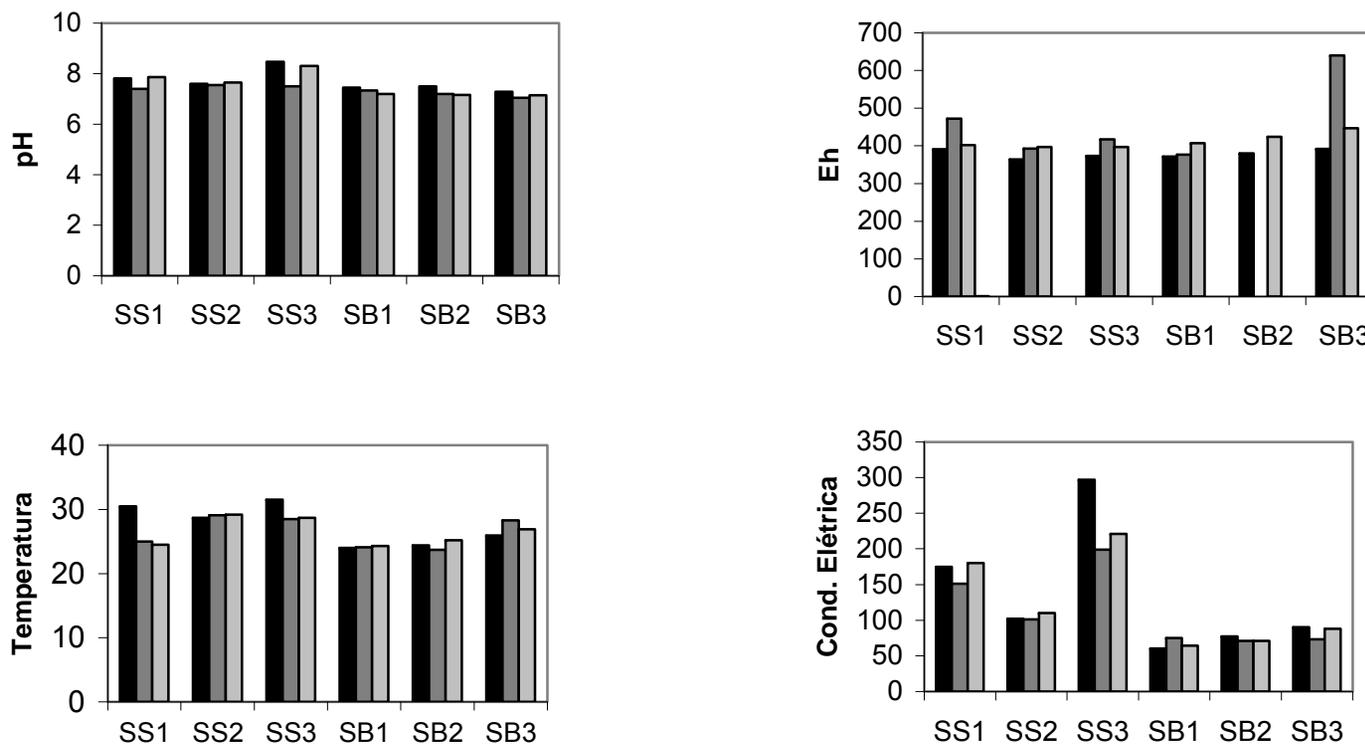


Figura 5.1 – Medidas de campo de pH, potencial redox - Eh (mV), temperatura (°C) e condutividade elétrica (uS/cm) em três pontos nas áreas da mina do Sossego (SS) e do Projeto Salobo (SB), nas campanhas de campo de agosto/2006 – estação seca (preto), janeiro/2007 – estação chuvosa (cinza-escuro) e julho/2007 – estação seca (cinza-claro); o valor de Eh no ponto SB2, na 2ª campanha, não está apresentado, pois não foi validado

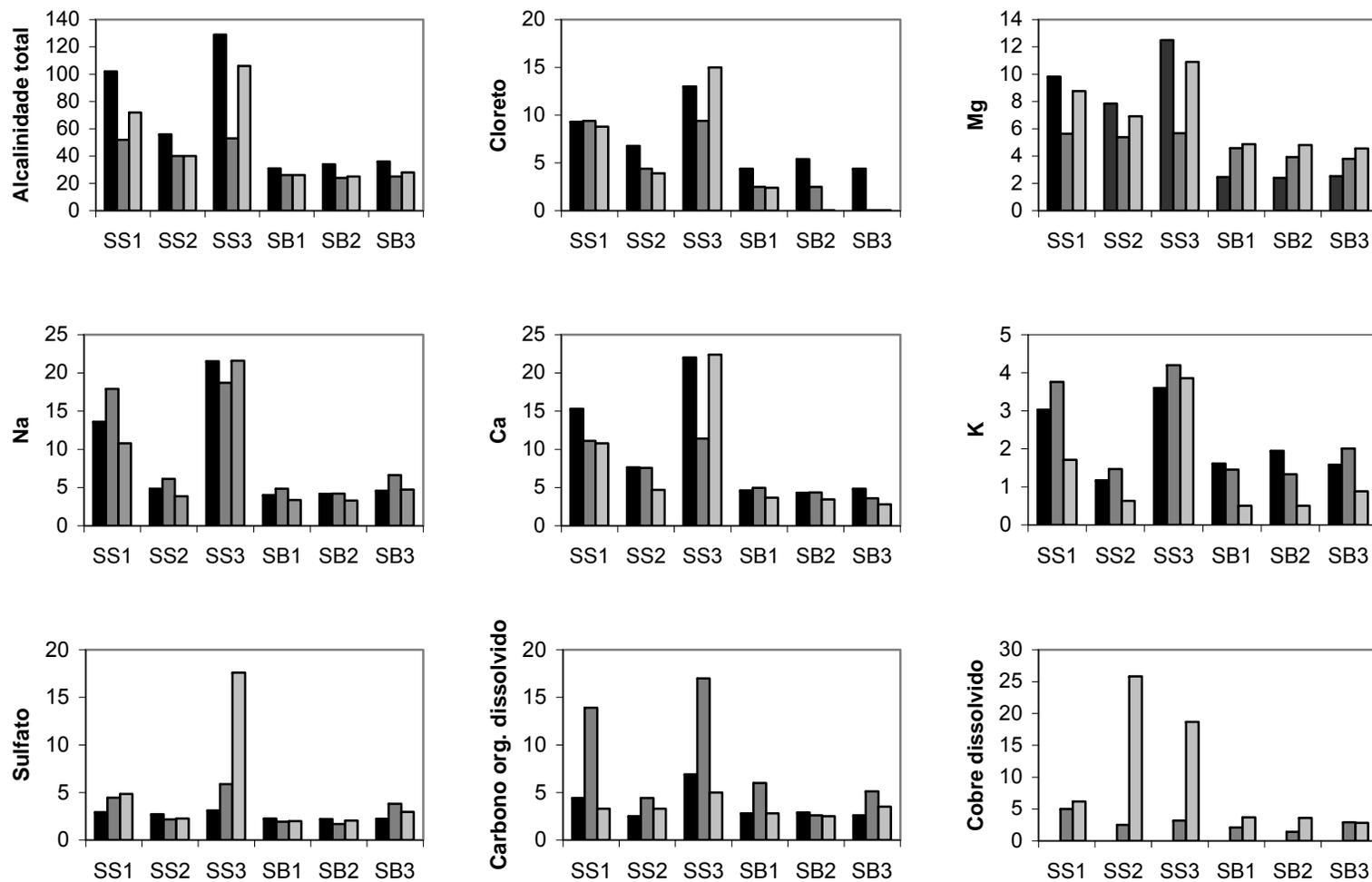


Figura 5.2 – Alguns parâmetros químicos medidos em laboratório (mg/L; Cu em ug/L) a partir da amostragem realizada em três pontos nas áreas da mina do Sossego (SS) e do Projeto Salobo (SB), nas campanhas de campo de agosto/2006 – estação seca (preto), janeiro/2007 – estação chuvosa (cinza-escuro) e julho/2007 – estação seca (cinza-claro)

O valor elevado de cobre dissolvido no ponto SS3 (18,7 µg/L) foi acompanhado por uma elevação também significativa na concentração de sulfato (17,6 mg/L), mas isto não ocorreu para o ponto SS2, onde o valor de cobre dissolvido foi de 25,8 µg/L e o de sulfato apenas 2,24 mg/L, não tendo sido possível, nesta situação, identificar o ligante do cobre responsável pelo seu valor elevado.

É importante também fazer uma análise dos resultados considerando a sazonalidade das campanhas, já que a primeira e a terceira foram realizadas em época seca (agosto/2006 e julho/2007), e a segunda em época chuvosa (janeiro de 2007). Desta forma, observa-se que os parâmetros alcalinidade e Mg apresentaram, em geral, valores mais elevados nas campanhas da estação seca, quando comparado à estação chuvosa, comprovando, nestes casos, o princípio da diluição química, que considera menores concentrações do elemento quanto maior o volume de água. Ao contrário, os parâmetros Na, K, Mn, Fe, Al, sólidos totais e carbono orgânico dissolvido apresentaram, em geral, valores mais elevados na campanha da época chuvosa, quando comparados aos da época seca, o que pode ser explicado por uma maior solubilização dos cátions, ânions e matéria orgânica, nesta estação. Para reforçar esta interpretação, observa-se que os parâmetros ferro e alumínio, que normalmente ocorrem na forma de hidróxidos e são bastante comuns em países tropicais devido ao intemperismo físico e químico, apresentam os valores total e dissolvido mais elevados na segunda campanha, mostrando uma maior solubilização na época de chuva (Vasconcelos *et al.*, 2004). De qualquer forma, esta interpretação da influência da sazonalidade nos resultados é dificultada pelos baixos valores dos parâmetros, pela relativa proximidade dos resultados, em alguns casos, e pela pouca quantidade de dados.

5.2 Avaliação da toxicidade aguda pelo modelo *BLM*

O relatório dos resultados dos ensaios de toxicidade aguda obtidos em laboratório para a segunda e terceira campanhas estão apresentados no Anexo IV (Relatório Final RL0932/2007 – 1.0CD-Agudo-A; TECAM Tecnologia Ambiental), assim como uma tabela-resumo dos resultados. Conforme já ressaltado anteriormente, para a primeira campanha não foram realizados ensaios agudos, pois o método para o trabalho ainda estava sendo

consolidado. A figura 5.3 apresenta um gráfico com os resultados de toxicidade aguda obtidos em laboratório, para a segunda e terceira campanhas.

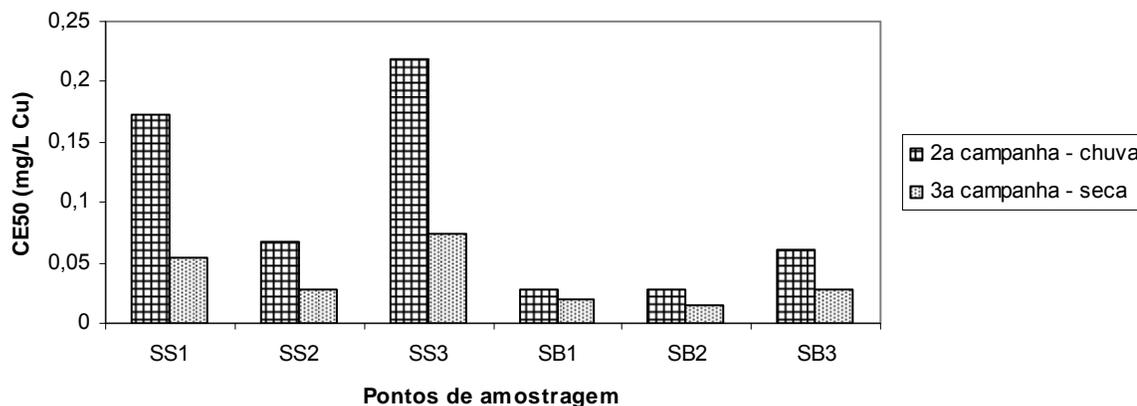


Figura 5.3 – Resultados de toxicidade aguda (laboratório) na segunda e terceira campanha de campo (CE50, µg/L Cu)

A figura 5.4 mostra a correlação entre os resultados de toxicidade previstos pelo modelo *BLM* e os obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, na segunda e terceira campanha de campo. A reta com traço contínuo expressa a perfeita correlação e as retas tracejadas delimitam a faixa de aceitação da dispersão dos pontos, correspondendo a mais ou menos 2 vezes.

O gráfico da figura 5.4 mostra que quase todos os pontos que correlacionam resultados medidos e previstos situam-se dentro da faixa de aceitação de dispersão. Apenas os pontos SB1 (segunda campanha) e SS3 (terceira campanha) encontram-se fora desta faixa, mas assim mesmo bem próximos ao limite da reta superior.

É possível perceber a existência de dois conjuntos de pontos: um mais à esquerda do gráfico, representado pelas amostras coletadas na área do Projeto Salobo (série “SB”), e outro mais à direita, representado pelas amostras coletadas na área da Mina do Sossego (série “SS”). As amostras do Projeto Salobo apresentam menores valores da CE50, isto é, têm maior toxicidade do que as da Mina do Sossego.

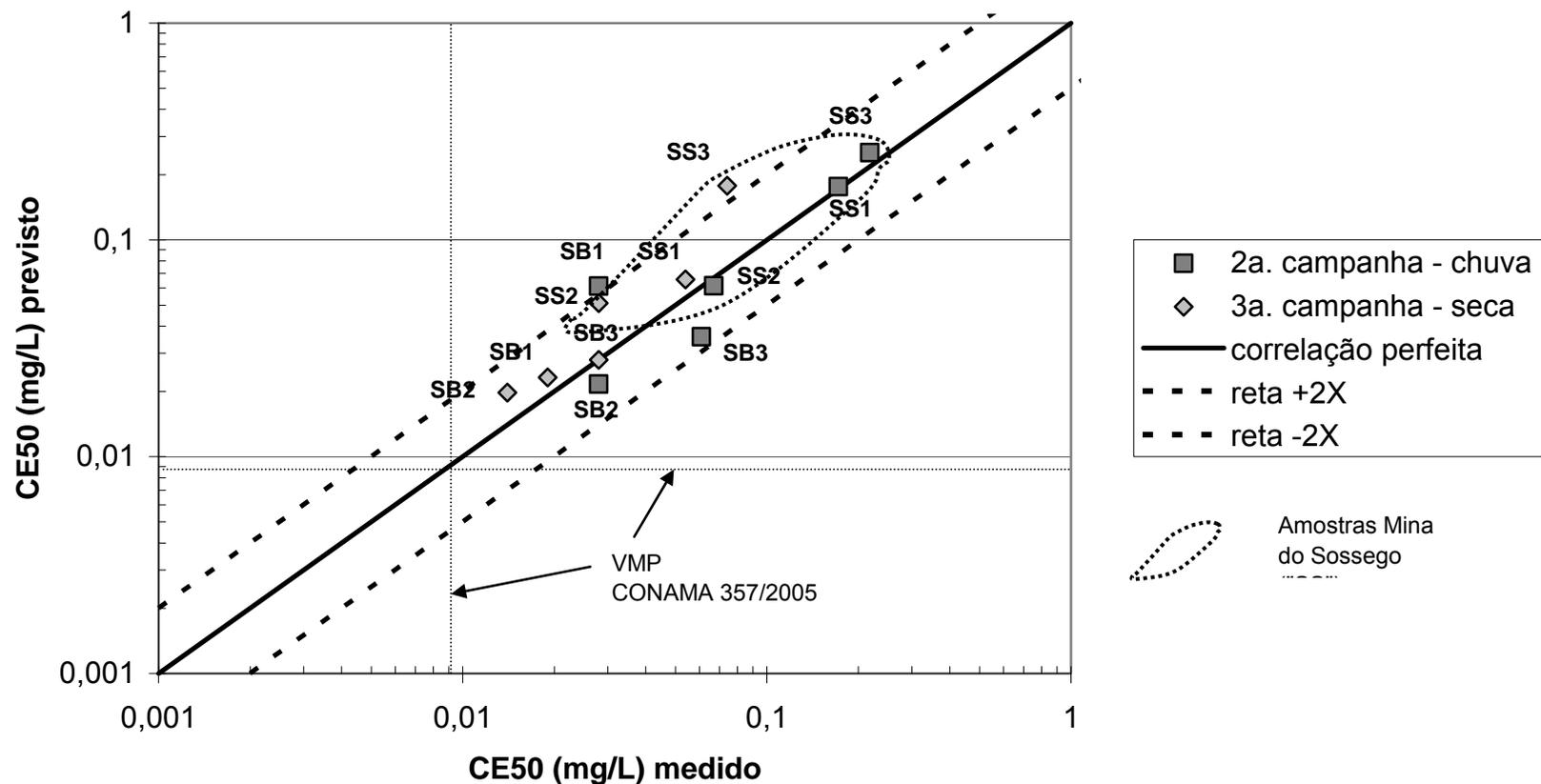


Figura 5.4 – Relação entre resultados previstos (*BLM*) e medidos para ecotoxicidade aguda de *Ceriodaphnia dubia*.- CE50; 48h - na segunda e terceira campanha de campo nas áreas da Mina do Sossego (SS) e do Projeto Salobo (SB), expressos como cobre dissolvido. A linha contínua indica correlação perfeita entre CE50 prevista e medida e as linhas tracejadas delimitam a faixa de aceitação de dispersão dos resultados. As retas pontilhadas indicam o valor máximo permitido (VMP) para Cu dissolvido, de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005 (0,009 mg/L).

Conforme já comentado anteriormente, esta situação reflete um efeito mitigador proporcionado por uma maior solubilização de cátions e ânions para os corpos hídricos, provocado pelas atividades de mineração, com exposição e movimentação do solo e das rochas. Ao contrário, a área do Projeto Salobo é mais virgem e preservada, estando, portanto, mais vulnerável aos impactos do lançamento de metais na água. Desta forma, impactos negativos da atividade de mineração em corpos hídricos podem ser atenuados por esta mesma atividade, desde que a solubilização de determinados elementos não seja suficientemente elevada para provocar efeitos adversos.

Observa-se também que todos os resultados da CE50, inclusive aqueles das amostras do Projeto Salobo, ficaram acima do valor máximo permitido para corpos hídricos Classe 2, segundo a Resolução CONAMA 357/2005. A faixa de valores da CE50 está dentro daquela comumente citada na literatura, que pode variar de 10 a 1000 µg/L Cu (ex: Di Toro *et al.*, 2001; De Schamphelaere *et al.*, 2002; De Schamphelaere e Jansen, 2002; De Schamphelaere *et al.*, 2004; Bossuyt *et al.*, 2004; Villavicencio *et al.*, 2005; Hyne *et al.*, 2005; De Schamphelaere *et al.*, 2007).

A toxicidade das amostras coletadas na Mina do Sossego obedeceu a sequência dos pontos de amostragem SS3<SS1<SS2. Conforme também já comentado anteriormente, o ponto SS2 está localizado no Igarapé Sossego, a montante do empreendimento, e portanto numa situação de maior preservação e ao mesmo tempo de menor proteção contra impactos adversos, o que explica sua maior vulnerabilidade e menor valor da CE50. Para as amostras coletadas nesta área, observa-se uma ótima correlação entre os resultados medidos e previstos na segunda campanha, fato evidenciado pela posição dos pontos próxima à reta central. Na terceira campanha, a melhor correlação entre os resultados medidos e previstos foi a do ponto SS1 e a pior a do ponto SS3, fato evidenciado pela posição destes em relação à reta central.

As amostras coletadas na área do Projeto Salobo apresentaram maior toxicidade (menor CE50). Na segunda campanha, a ordem crescente da toxicidade foi SB3<SB2=SB1. Embora os resultados de toxicidade medidos para os pontos SB1 e SB2 sejam iguais, os resultados previstos pelo modelo *BLM* apresentaram toxicidade no ponto SB1 maior que no ponto SB2. Além disto, a correlação entre resultados medidos e previstos não foi tão

consistente quanto aquela da Mina do Sossego, fato evidenciado por um maior afastamento da reta central. Na terceira campanha, a ordem crescente da toxicidade foi $SB3 < SB1 < SB2$ e a correlação entre resultados medidos e previstos foi melhor para as amostras do Projeto Salobo do que para aquelas da Mina do Sossego, ao contrário do observado na segunda campanha, fato evidenciado por uma maior proximidade dos pontos em relação à reta central.

O ponto SB3, que sempre apresentou os menores valores de toxicidade (maior CE50) na área do Projeto Salobo, está situado numa outra sub-bacia, a sul das estruturas projetadas (Rio Cinzento), ao contrário dos demais, que estão na sub-bacia do Igarapé Salobo. A amostra coletada neste ponto apresentou alguns valores de parâmetros físico-químicos mais elevados que a própria amostra coletada no ponto SS2, na Mina do Sossego, o que possivelmente aumentou sua capacidade de atenuação contra os efeitos tóxicos do cobre. Como não há atividade antrópica nesta área, supõe-se que esta seja uma condição natural no local do ponto SB3.

Comparando-se os mesmos pontos, todos os valores de toxicidade medida na segunda campanha foram menores que na terceira, isto é, os valores da CE50 foram sempre maiores na segunda campanha. A segunda campanha foi feita na época de chuva e os parâmetros Na, K, Mn, Fe, Al, sólidos totais e carbono orgânico dissolvido apresentaram, em geral, valores mais elevados do que aqueles da terceira campanha (época seca), sendo isto decisivo para a obtenção de menores valores de toxicidade, ainda que os parâmetros alcalinidade e Mg também tenham sido menores na segunda campanha. A diminuição significativa dos valores de carbono orgânico dissolvido na terceira campanha (em até 4,2 vezes, como no caso do ponto SS1), em relação à segunda, parece ter sido o fator principal a explicar o aumento da toxicidade. O ponto SS3, por exemplo, apresentou uma diminuição significativa nas concentrações de carbono orgânico dissolvido na terceira campanha (3,4 vezes em relação à segunda) e um aumento da toxicidade em mais de 100%. Os valores para sulfetos foram sempre menores que o limite de detecção do método, não permitindo nenhuma análise. Isto já era esperado devido aos baixos valores de Eh obtidos em campo.

Os gráficos apresentados nas figura 5.5 e 5.6 mostram a variação da toxicidade aguda – CE50 - para cobre dissolvido em *Ceriodaphnia dubia*, em função de diferentes parâmetros físico-químicos e por meio de regressão linear, com intervalos de confiança de 95%, para a segunda e terceira campanha de campo, respectivamente. Na segunda campanha, observa-se que pH, Mg e K foram os parâmetros que apresentaram maior sensibilidade para a variação da CE50, o que pode ser comprovado pelo maior coeficiente de inclinação da reta. Em termos de correlação entre o parâmetro considerado e a toxicidade (CE50), observa-se que Na, K e carbono orgânico dissolvido foram os parâmetros com melhor correlação (maior R^2). Na terceira campanha, observa-se que pH, carbono orgânico dissolvido e K foram os parâmetros que apresentaram maior sensibilidade para a variação da CE50. Em termos de correlação, observa-se que alcalinidade, Na e cloreto foram os parâmetros com melhor correlação (maior R^2).

De forma geral, os parâmetros pH, alcalinidade, cloreto, Mg, Ca, Na, K, sulfato e carbono orgânico dissolvido mostraram boa correlação com a toxicidade aguda, devido a efeitos combinados da especiação, complexação do cobre e competição pela ligação deste com outros metais no ligante biótico, resultando numa diminuição da toxicidade quando ocorre o aumento nos valores destes parâmetros (efeito protetor para a biota aquática). As mesmas conclusões foram apresentadas por diversos autores em trabalhos anteriores, como Erickson *et al.* (1996), Di Toro *et al.* (2000), Di Toro *et al.* (2001), Kim *et al.* (2001), Santore *et al.* (2001), De Schamphelaere e Jansen (2002), Paquin *et al.* (2002), De Schamphelaere *et al.* (2004c) e Hyne *et al.* (2005).

As correlações entre os parâmetros físico-químicos e os resultados de toxicidade são fundamentais para o entendimento dos resultados do modelo e para a avaliação de sua capacidade de predição. No caso deste estudo, a boa correlação entre os parâmetros pH, alcalinidade, cloreto, Mg, Ca, Na, K, sulfato e carbono orgânico dissolvido, e os resultados de toxicidade (figuras 5.5 e 5.6), aliado à boa capacidade de predição (comparação dos resultados previstos e medidos – figura 5.4) é extremamente significativa e comprova a robustez do modelo e a possibilidade de sua aplicabilidade mesmo em ambientes com características ambientais bem diferentes daquelas onde foi desenvolvido e amplamente testado até então.

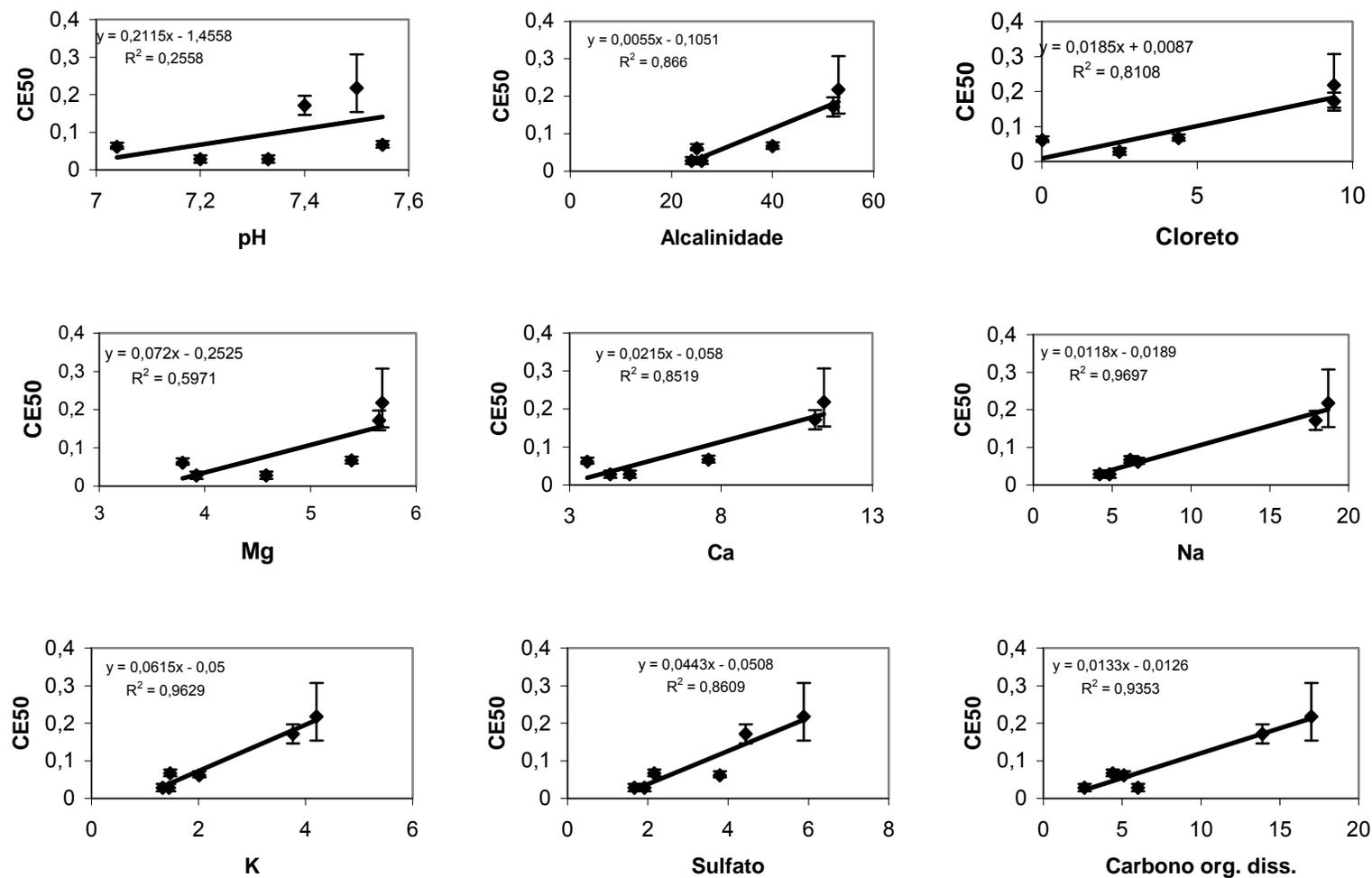


Figura 5.5 – Gráficos de correlação entre os resultados de alguns parâmetros físico-químicos (mg/L) e os resultados de toxicidade aguda medidos (CE50, ug/L Cu) para a segunda campanha de campo. Barras verticais representam intervalos de confiança de 95%.

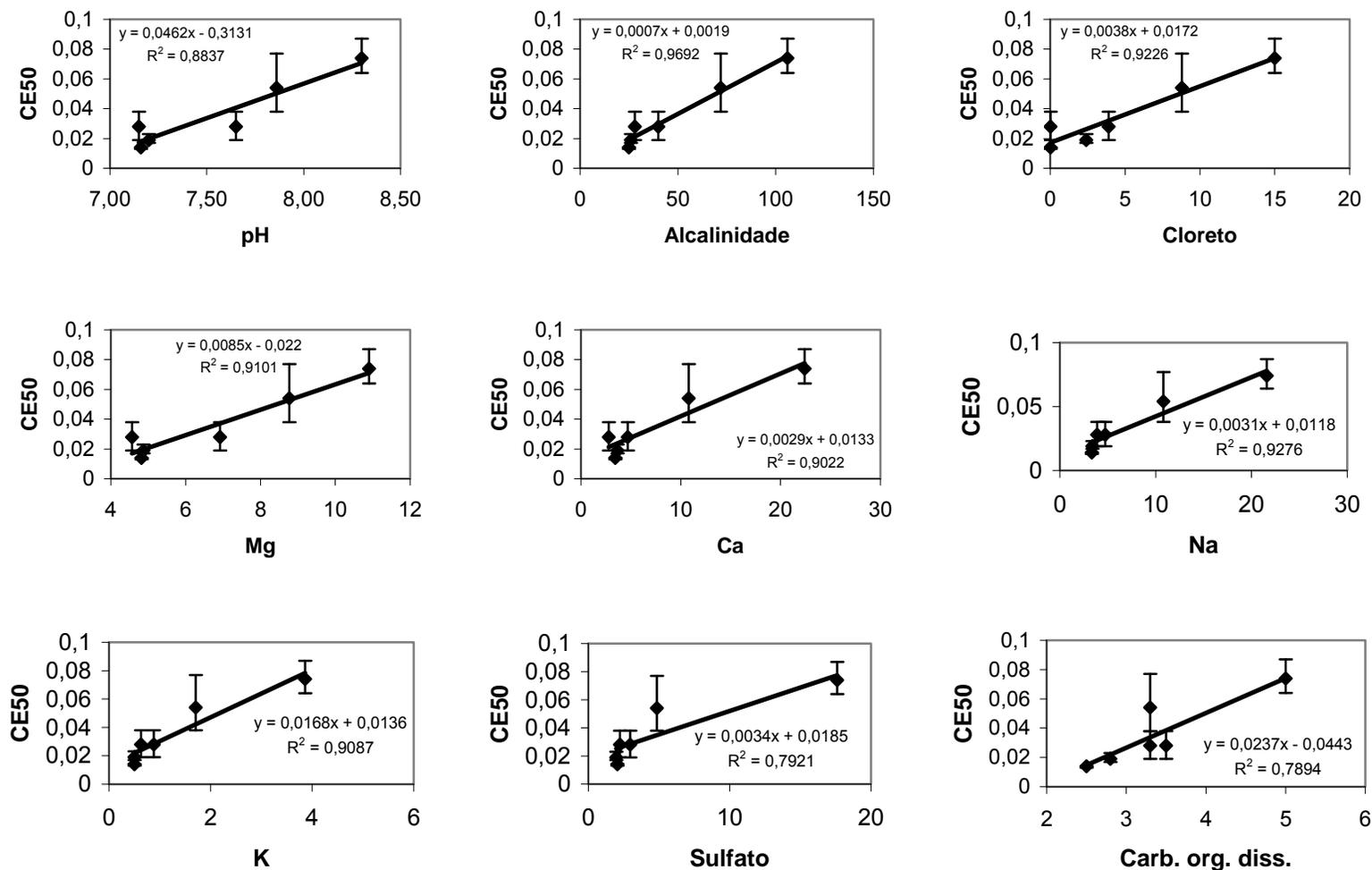


Figura 5.5 – Gráficos de correlação entre os resultados de alguns parâmetros físico-químicos (mg/L) e os resultados de toxicidade aguda medidos (CE50, ug/L Cu) para a terceira campanha de campo. Barras verticais representam intervalos de confiança de 95%.

5.3 Avaliação da toxicidade crônica pelo modelo *BLM*

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica obtidos em laboratório para a primeira, segunda e terceira campanhas estão apresentados no Anexo V (Relatório Final RL0932/2007 – 2.0 CD – Crônico; TECAM Tecnologia Ambiental). Estes resultados estão apresentados por meio dos valores estimados da concentração de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO), expressas em miligramas de cobre por litro. Conforme mencionado no item 4.4, CENO e CEO foram transformados em CI25 e CI50, a partir dos dados brutos dos ensaios de laboratório. Estes dados também estão apresentados no Anexo V.

A figura 5.7 apresenta um gráfico com os resultados de toxicidade crônica obtidos em laboratório, para as três campanhas, após a conversão do parâmetro CENO (“Concentração de Efeito Não-Observado”) pelo programa ICp 2.0. Neste estudo, foram considerados os resultados da concentração de inibição para a reprodução de 50% dos organismos (CI50). O resultado da CI50 para o ponto SS2 na segunda campanha não está apresentado, pois o programa ICp 2.0 não encontrou a consistência necessária nos dados para que os cálculos fossem efetuados.

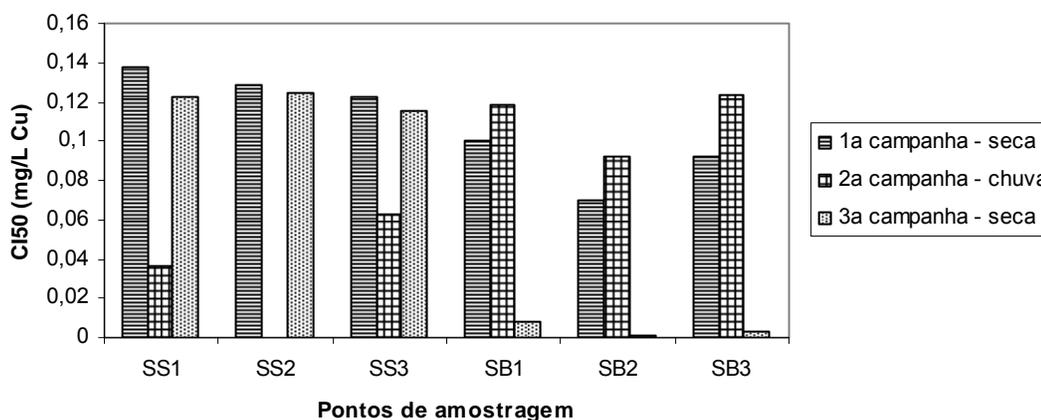


Figura 5.7 – Resultados de toxicidade crônica (laboratório) nas três campanhas de campo

A figura 5.8 mostra a correlação entre os resultados de toxicidade previstos pelo modelo *BLM* e os obtidos nos ensaios de toxicidade crônica, nas três campanhas de campo. A

figura 5.8A é um detalhe da figura 5.8, na área onde há maior concentração de pontos. A reta com traço contínuo expressa a perfeita correlação e as retas tracejadas delimitam a faixa de aceitação da dispersão dos pontos, correspondendo a mais ou menos 2 vezes.

Uma análise integrada dos resultados de toxicidade crônica nas três campanhas permite dizer que estes não seguiram um mesmo padrão, ocorrendo diferenças significativas entre eles. Somente na primeira campanha o modelo previu de forma coerente a toxicidade crônica para todos os pontos, quando se faz a comparação com os resultados obtidos a partir dos dados brutos de laboratório (todos os pontos situam-se dentro da faixa de aceitação). Nesta campanha, o modelo conseguiu ainda fazer a separação dos dois grupos de amostras, o da Mina do Sossego (“SS”), mais à direita (menor toxicidade), e o do Projeto Salobo (“SB”), mais à esquerda (maior toxicidade). Conforme já comentado anteriormente, esta situação reflete um efeito mitigador proporcionado por uma maior solubilização de cátions e ânions para os corpos hídricos, provocado pelas atividades de mineração na Mina do Sossego, com exposição e movimentação do solo e das rochas. Ao contrário, a área do Projeto Salobo é mais virgem e preservada, estando, portanto, mais vulnerável aos impactos do lançamento de metais na água. Desta forma, impactos negativos da atividade de mineração em corpos hídricos podem ser atenuados por esta mesma atividade, desde que a solubilização de determinados elementos não seja suficientemente elevada para provocar efeitos adversos. É importante ressaltar, entretanto, que os resultados previstos pelo *BLM* foram obtidos a partir de uma única concentração de cobre dissolvido ($5 \mu\text{g/L}$), já que todas as análises químicas deste parâmetro, nesta primeira campanha, apresentaram resultados abaixo do limite de detecção do método, conforme observado anteriormente.

Na análise do gráfico das figuras 5.8 e 5.8A para a segunda campanha observa-se também dois conjuntos de pontos: um mais à esquerda e completamente fora da faixa de aceitação, representado pelas amostras coletadas na área da Mina do Sossego (série “SS”), e outro mais à direita, dentro da faixa de aceitação, representado pelas amostras coletadas na Projeto Salobo (série “SB”).

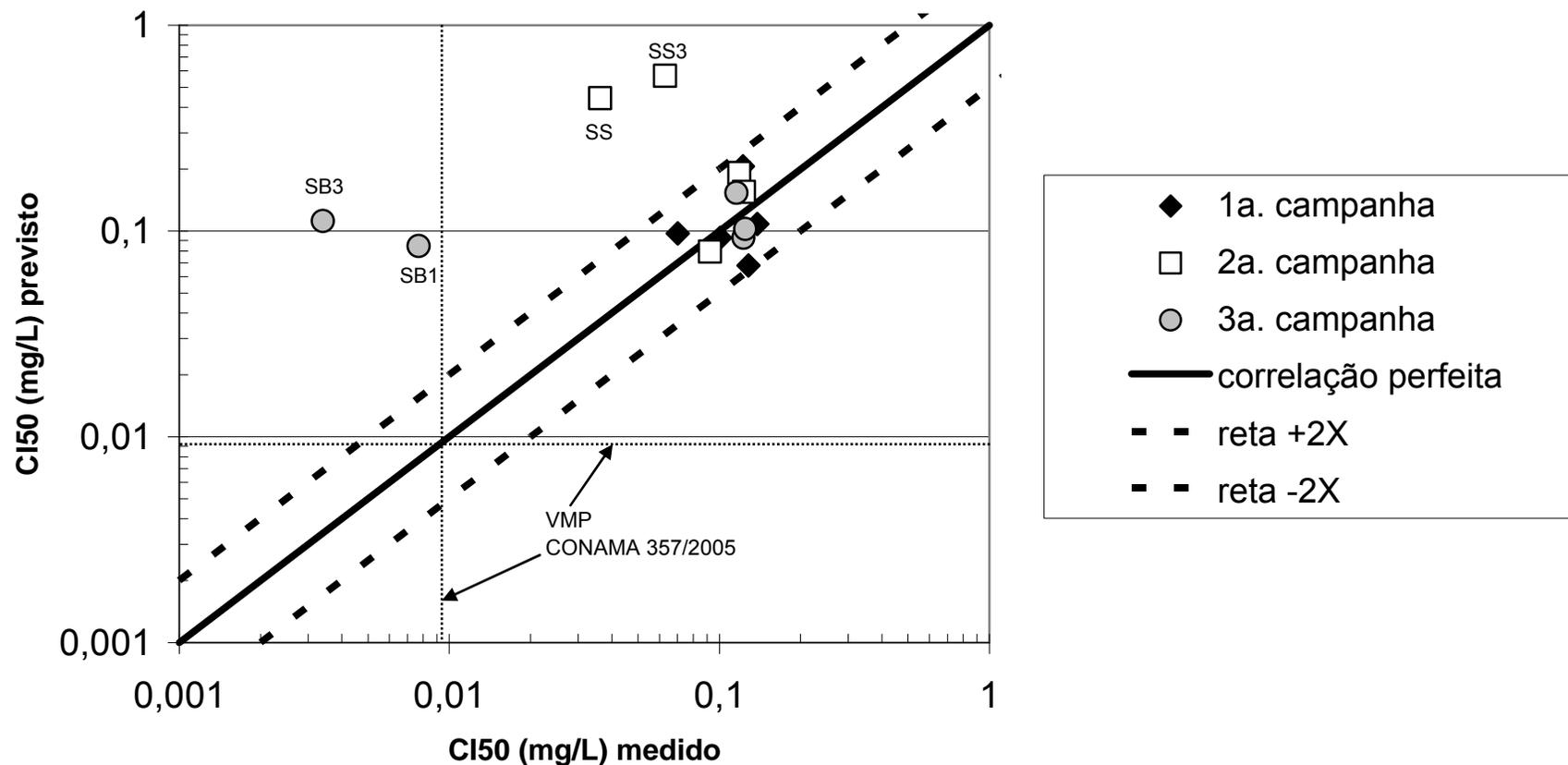


Figura 5.8 – Relação entre resultados previstos (*BLM*) e medidos para toxicidade crônica - CI50; 7 dias – nas três campanhas de campo nas áreas da Mina do Sossego (SS) e do Projeto Salobo (SB), expressos como cobre dissolvido para *Ceriodaphnia dubia*. A linha contínua indica correlação perfeita entre CI50 prevista e medida e as linhas tracejadas delimitam a faixa de aceitação de dispersão dos resultados. As retas pontilhadas indicam o valor máximo permitido (VMP) para Cu dissolvido, de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005 (9 µg/L).

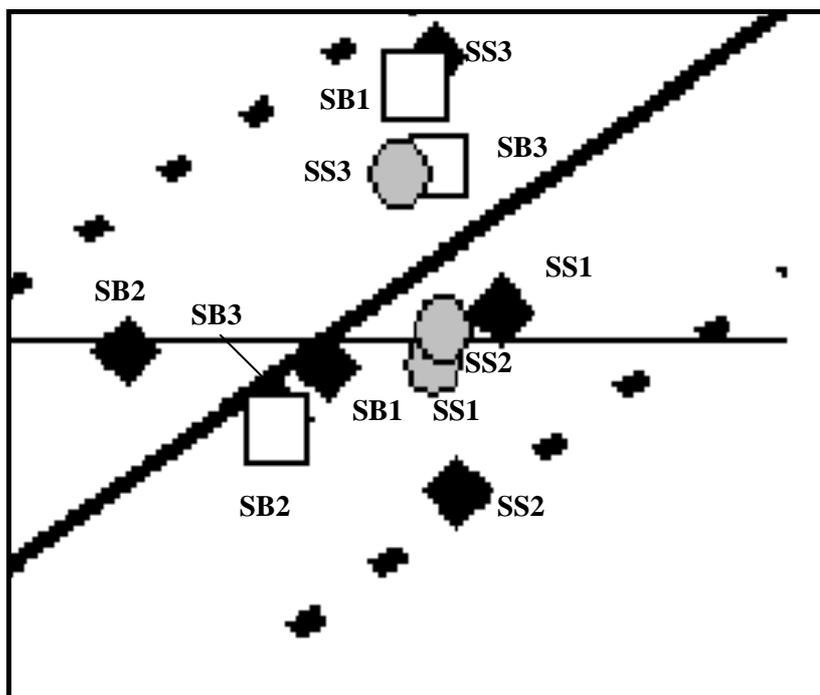


Figura 5.8A – Detalhe da figura 5.8, na região de maior concentração de pontos, mostrando a relação entre resultados previstos (*BLM*) e medidos para toxicidade crônica - CI50; 7 dias – nas três campanhas de campo nas áreas da Mina do Sossego (SS) e do Projeto Salobo (SB), expressos como cobre dissolvido para *Ceriodaphnia dubia*. A linha contínua indica correlação perfeita entre CI50 prevista e medida e as linhas tracejadas delimitam a faixa de aceitação de dispersão dos resultados.

O ponto SS2 não apareceu, pois o programa ICp 2.0 não pode calcular a CI50 a partir dos dados brutos, dentro de um intervalo de confiança estatisticamente aceitável. No caso da terceira campanha, observa-se também dois conjuntos de pontos: um mais à esquerda e completamente fora da faixa de aceitação, representado pelas amostras coletadas na área do Projeto Salobo (série “SB”), e outro mais à direita, dentro da faixa de aceitação, representado pelas amostras coletadas na Mina do Sossego (série “SS”). O ponto SB2 também não apareceu, pois seu valor da CI50 foi tão pequeno que localizou-se fora da escala do gráfico.

Comparando-se os resultados dos pontos que situam-se dentro da faixa de aceitação para toxicidade crônica (figuras 5.8 e 5.8A) com aqueles de toxicidade aguda (figura 5.4), observa-se que, com exceção dos pontos SS1 e SS3 (segunda campanha/tox. aguda), todos os demais apresentam valores de toxicidade crônica (CI50) maiores que de toxicidade aguda (CE50). Valores de toxicidade crônica obtidos na literatura

variaram de 20 a 350 $\mu\text{g/L}$ Cu (De Schamphelaere e Jansen, 2004a; De Schamphelaere e Jansen, 2004b; Schwartz e Vigneault, 2007). De Schamphelaere e Jansen (2004a) apontam que a diferença mais importante entre as exposições aguda e crônica é que, provavelmente, os componentes fisiológicos da toxicidade do cobre tornam-se mais importantes com uma maior duração da exposição, visto que isto permite o estabelecimento de respostas para a aclimatação. Bossuyt e Jansen (2001) verificaram que organismos expostos a concentrações subletais de cobre podem se aclimatar, resultando em toxicidade menor. Além disto, deve ser considerado que o metal pode ser adsorvido nas algas que são utilizadas para alimentação dos organismos, diminuindo sua disponibilidade e, portanto, a toxicidade dos organismos (De Schamphelaere e Jansen, 2004a).

Pela análise dos resultados apresentados nas figuras 5.8 e 5.8A, considerando-se as três campanhas, pode-se afirmar que o modelo *BLM* para toxicidade crônica foi capaz de modelar significativa parte dos pontos (2/3), que encontram-se dentro da faixa de aceitação, mas não teve sensibilidade suficiente para separar os valores de toxicidade por área amostrada e por época (sazonalidade). Os doze pontos que situam-se dentro da faixa de aceitação têm valores da CI50 acima do valor máximo permitido para cobre em corpos hídricos Classe 2 (0,009 mg/L), segundo a Resolução CONAMA 357/2005. Todos os pontos da primeira campanha têm valores de CI50 mais elevados e situam-se dentro da faixa de aceitação, com comportamento coerente (CI50 Sossego > Salobo). Por outro lado, todos os pontos da segunda e terceira campanhas que têm baixos valores de CI50 medidos, independentemente da área amostrada, ficaram fora da faixa de aceitação ou não puderam ser modelados (SS2, segunda campanha). O modelo *BLM* também previu, para a maioria dos pontos, valores de CI50 maiores que os medidos.

Ressalta-se que as amostras de água coletadas nos pontos SS2 e SB3, na segunda campanha, e em todos os pontos na terceira campanha, com exceção do SS3, apresentaram toxicidade crônica na sua condição natural. Esta avaliação foi feita por meio da aplicação dos testes “F e t” (Zar, J.H., 1999) aos dados de reprodução destas amostras, em comparação à amostra “controle” (água de represa), antes do início dos testes com concentrações de cobre. Isto significa que os efeitos das concentrações de cobre observados nestas amostras (CEO, CENO e CI50) podem ter sido alterados em função desta toxicidade natural, mas não ficou claro em que medida este fato

influenciou os resultados finais, visto que alguns destes pontos foram modelados pelo *BLM* de forma consistente (SB3, segunda campanha; todos os pontos “SS” da terceira campanha) e outros não (SS2, segunda campanha; todos os pontos “SB” da terceira campanha).

A complexidade para a interpretação destes resultados é reforçada por dados fisiológicos apresentadas por Lauren e Wood (1987), Galvez *et al.* (1998) e Galvez e Wood (2002), que constataram que a perturbação ionoregulatória no ligante biótico (redução do Na^+), causada inicialmente pelos metais, é seguida, após um período de 7 a 14 dias, por uma recuperação nos níveis de Na^+ , enquanto outros padrões podem manter-se perturbados, como a taxa $\text{Na}/\text{K}\text{-ATPase}$ ou o fluxo de Na^+ . Ainda, Szebedinsky *et al.* (2001) mostraram que as características do ligante biótico, como a densidade nos locais de ligação e as constantes de estabilidade, também mudam em resposta a exposições prolongadas. Todos estes fatores, associados ao fato de que o programa *BLM* utilizado (HydroQual, 2007) foi desenvolvido para toxicidade aguda, tendo sido calibrado para modelar a toxicidade crônica segundo o ajuste do $\log K/\text{Cu}$ -ligante biótico (“modelo 3”, De Schamphelaere e Jansen, 2004a), certamente influíram nos resultados finais obtidos pelo *BLM* e tornaram sua interpretação mais complexa. Ressalta-se ainda o fato de que a calibração do modelo apresentado em De Schamphelaere e Jansen (2004a) foi feita para o organismo *Daphnia magna*, e não para *Ceriodaphnia dubia*, que foi o organismo utilizado nos ensaios de laboratório deste estudo. *Daphnia magna* é cultivada e testada em águas com dureza mais elevada (200-300 mg/L CaCO_3), quando comparado à *Ceriodaphnia dubia* (40-48 mg/L CaCO_3). Uma maior dureza significa maior efeito protetor e menor toxicidade, trazendo assim mais um fator de incerteza para a interpretação dos resultados dos ensaios crônicos.

5.4 Aplicação do *BLM* no contexto regulatório

O *Water Quality Criteria (WQC)* inicialmente desenvolvido pela agência ambiental dos Estados Unidos em 1985 (*USEPA, 1985*) e atualizado posteriormente era baseado numa relação empírica apenas entre dureza e toxicidade. Recomendações mais recentes (*USEPA, 1994 e 2001*) atualizaram este critério incorporando ajustes relacionados a características químicas específicas da água local, além da dureza (*WER – Water Effect Ratio*). Para o cálculo do *WQC*, inicialmente a *LC50* em várias

durezas era normalizado em relação a um valor de referência por meio de regressão, e esta *LC50* normalizada para cada espécie biológica. A média destes valores gerava os parâmetros *SMAV* (*Species Mean Acute Values*) e *GMAV* (*Genus Mean Acute Values*). O quinto percentil do *GMAV* era o “valor agudo final” – *FAV* (*Final Acute Value*) e o critério de máxima concentração (*CMC* - *Criterion Maximum Concentration*) era obtido dividindo-se o *FAV* por dois, visando garantir a proteção das espécies mais sensíveis. Um procedimento similar era utilizado para avaliar o critério de proteção para toxicidade crônica (*CCC* – *Criteria Continuous Concentration*), sendo que este era determinado dividindo-se o *FAV* pelo *FACR* (*Final Acute-to-Chronic Ratio*), também obtido com base nos dados de ensaios de laboratório. Em 2007 ocorreu uma revisão nas recomendações do (*USEPA, 2007*), de forma que o *CMC* passou a ser calculado por meio do *BLM* e não mais por meio de fórmulas de regressão baseadas apenas na dureza. O procedimento de cálculo pelo *BLM* faz a normalização da *LC50* incluindo vários parâmetros físico-químicos, conforme a fundamentação teórica do modelo.

Neste estudo, foi utilizada a última versão do *BLM* (*HydroQual, 2007*) para cálculo do *CMC* e do *CCC*, ou valor máximo de cobre para proteção de comunidades aquáticas (*WQC EPA-BLM*), considerando cada ponto de amostragem, em todas as campanhas de campo. No caso da toxicidade aguda, os valores calculados pelo modelo foram comparados com os valores de *CE50* medidos em laboratório e previstos pelo próprio *BLM*, divididos por dois, de forma a equalizar o critério de proteção. Todos estes valores foram comparados com o valor máximo permitido (*VMP*) para cobre, segundo a Resolução *CONAMA 357/2005*. As figuras 5.9 e 5.10, a seguir, apresentam estes resultados. Tabelas com os cálculos que geraram estes resultados estão apresentadas no Anexo VI.

Para os pontos coletados na Mina do Sossego observa-se que todos os critérios de proteção da vida aquática e preservação da qualidade da água apresentaram valores maiores do que aqueles estabelecidos na norma regulatória brasileira, sendo o ponto *SS3* aquele em que se observou as maiores diferenças. No caso dos pontos coletados na área do Projeto Salobo, na segunda campanha apenas o ponto *SB2* apresentou um valor de *WQC EPA-BLM* menor do que a norma brasileira, embora tenham ocorrido alguns outros valores bem próximos (*WQC EPA-BLM* no ponto *SB3* e *CE50/2 – BLM* no próprio ponto *SB2*). Na terceira campanha de campo, para todos os pontos os valores de *WQC EPA-BLM* foram menores do que os da norma brasileira. Outros

valores bem próximos também ocorreram, tanto no caso da CE50/2 medida como do prevista.

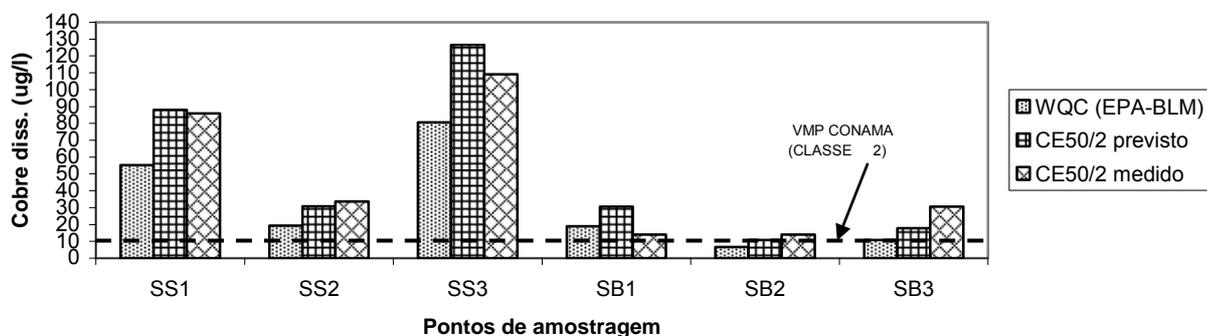


Figura 5.9 – Comparação entre o *water quality criteria* (WQC) para cobre – toxicidade aguda – calculado diretamente pelo *BLM*, valores de CE50 previstos pelo modelo e medidos em laboratório (divididos por dois) e o valor máximo permitido para cobre segundo a Resolução CONAMA 357/2005 (0,009 mg/L), para as amostras de água coletadas na segunda campanha de campo na Mina do Sossego (“SS”) e no Projeto Salobo (“SB”)

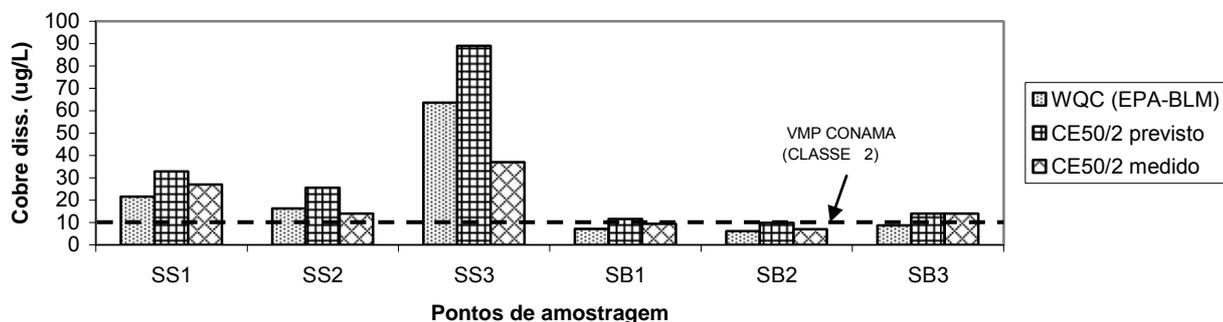


Figura 5.10 - Comparação entre o *water quality criteria* (WQC) para cobre – toxicidade aguda – calculado diretamente pelo *BLM*, valores de CE50 previstos pelo modelo e medidos em laboratório (divididos por dois) e o valor máximo permitido para cobre segundo a Resolução CONAMA 357/2005 (0,009 mg/L), para as amostras de água coletadas na terceira campanha de campo na Mina do Sossego (“SS”) e no Projeto Salobo (“SB”)

No caso da toxicidade crônica, os valores calculados diretamente pelo modelo (*WQC EPA-BLM*) foram comparados com os valores de *CE50* medidos em laboratório e também com aqueles previstos pelo próprio *BLM*, divididos pelo *FACR* (*Final Acute-to-Chronic Ratio*), de forma a equalizar o critério de proteção. Todos estes valores foram comparados com o valor máximo permitido (*VMP*) para cobre, segundo a Resolução CONAMA 357/2005. A figura 5.11, a seguir, apresenta estes resultados. Tabelas com os cálculos que geraram estes resultados estão apresentadas no Anexo VII.

Para os pontos coletados na Mina do Sossego observa-se que todos os critérios de proteção da vida aquática e preservação da qualidade da água apresentaram valores maiores do que aqueles estabelecidos na norma regulatória brasileira, com exceção do ponto SS2 na primeira campanha, para o índice *WQC (EPA-BLM)*, e para este mesmo ponto na terceira campanha, para o índice *CE50/FACR* medido. As maiores diferenças em relação ao *VMP* da Resolução CONAMA 357/2005 sempre foram observadas no ponto SS3, em todas as campanhas. No caso dos pontos coletados na área do Projeto Salobo, todas as amostras na primeira e terceira campanhas, para todos os parâmetros de proteção da vida aquática, apresentaram valores menores do que o *VMP* da norma brasileira. Na segunda campanha, parte dos valores esteve acima e parte esteve abaixo do *VMP* da norma brasileira.

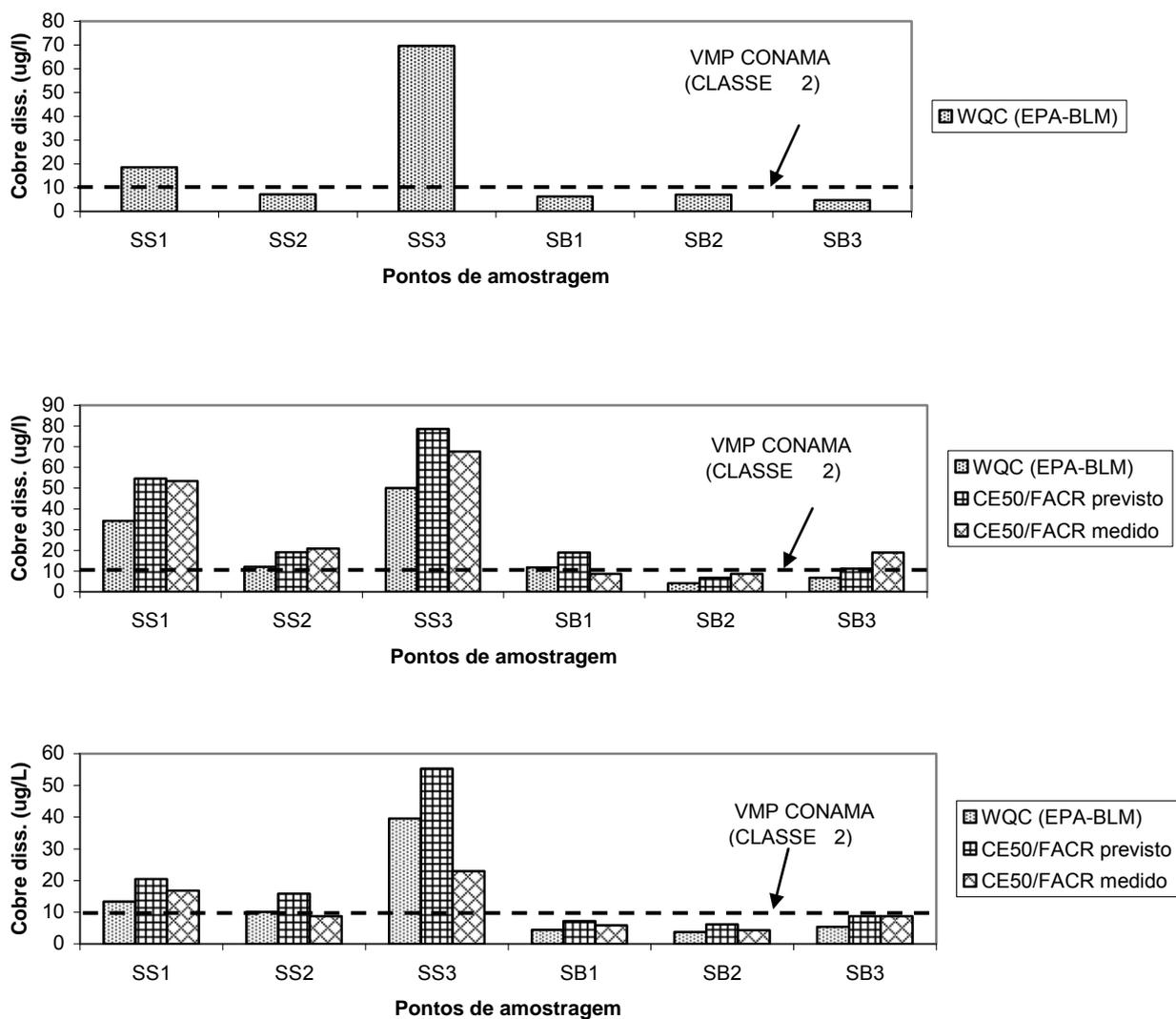


Figura 5.11 – Comparação entre o *water quality criteria* (WQC) para cobre – toxicidade crônica - calculado diretamente pelo *BLM*, valores de CE50 previstos pelo modelo e medidos em laboratório (divididos pelo FACR) e o valor máximo permitido para cobre segundo a Resolução CONAMA 357/2005 (0,009 mg/L), para as amostras de água coletadas nas três campanhas de campo na Mina do Sossego (“SS”) e no Projeto Salobo (“SB”); na primeira campanha não houve ensaios de toxicidade aguda, razão pela qual não aparecem os índices CE50/FACR previsto e medido

5.5 Considerações finais

A estrutura conceitual para o modelo *BLM* vem sendo desenvolvida desde a década dos anos 1980. Inúmeros trabalhos foram elaborados ao longo dos últimos vinte e cinco anos, em universidades e centros de pesquisa, acumulando uma grande base de dados teóricos e experimentais.

O modelo utiliza reações de equilíbrio de cobre e de outros cátions ocorrendo em um único tipo de superfície ligante, onde são expressados todos os efeitos das condições físico-químicas do meio sobre a toxicidade, e neste aspecto é uma representação simples e aproximada. Os efeitos dos outros cátions podem envolver outros mecanismos que não a competição no ligante. O microambiente na brânquia pode alterar a especiação de cobre. Múltiplos mecanismos podem ocorrer como reações diferentes a condições do meio externo, afetando igualmente a biodisponibilidade de cobre e a toxicidade. Processos que não ocorrem em equilíbrio podem ser importantes, especialmente nas reações cobre-ligante. No entanto, apesar destas ressalvas, deve-se considerar sempre que qualquer modelo é uma simplificação da realidade e a existência de incertezas não invalida sua utilização e justificativas. Apesar da sua simplicidade, o *BLM* fornece uma estrutura bastante razoável para os efeitos já bem estabelecidos da especiação do cobre, especialmente quanto à sua biodisponibilidade. Ele também inclui um mecanismo importante que permite indicar os efeitos dos cátions e calcular as concentrações requeridas de várias espécies químicas. Mesmo que as descrições mecanicistas sejam incompletas, este modelo permite claramente que os mais importantes efeitos empíricos entre ligantes complexantes e cátions sejam descritos de forma mais abrangente e razoável que outras abordagens (*USEPA*, 2007).

Como esse modelo é usado como critério para prever os efeitos adversos da exposição aos fatores físico-químicos do meio, sua utilidade pode ser julgada com base na sua capacidade de predição. Neste aspecto, também vários trabalhos publicados nos últimos anos atestam sua validação (ex: Di Toro *et al.* 2000; Di Toro *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2001; De Schamphelaere e Jansen, 2002; De Schamphelaere *et al.*, 2002; Gensemer *et al.*, 2002; De Schamphelaere e Jansen, 2004a; De Schamphelaere e Jansen, 2004b; De Schamphelaere *et al.*, 2004; Hyne *et al.*, 2005; Villavicencio *et al.*, 2005; Kamo e Nagai, 2008; Ryan *et al.*, 2009). Estes trabalhos

foram desenvolvidos com diferentes espécies de microrganismos, em diferentes regiões e para diferentes espécies químicas, embora cobre, zinco, cádmio e prata tenham sido os principais objetos dos estudos. Vale ressaltar ainda que o *BLM* é a ferramenta utilizada pelo *MERAG* (*Metals Environmental Risk Assessment Guidance*) para avaliação da especiação, mobilidade e biodisponibilidade dos metais no ambiente aquático. O *MERAG* contempla os conceitos científicos mais avançados para avaliar o risco representado pela presença de metais e compostos inorgânicos metálicos no ambiente. O projeto foi lançado pelo *ICMM* (*International Council on Mining and Metals*) e pela *Eurometaux*, e desde então vem sendo apoiado por diferentes países, que terminaram por adotar o *MERAG* como ferramenta para avaliação de riscos ambientais (*ICMM*, 2007). Estas informações atestam, corroboram e fortalecem os resultados alcançados neste estudo, para toxicidade aguda, pois os mesmos mostraram correlação bastante razoável entre resultados previstos e medidos, comprovando a robustez do modelo. Por sua vez, os resultados obtidos para toxicidade crônica, embora situados na maior parte (dois terços) dentro da faixa de aceitação de erro, apontam ainda para uma necessidade de maior desenvolvimento e compreensão dos múltiplos fatores que relacionam características físico-químicas do meio, mecanismos fisiológicos e toxicidade, não tendo sido totalmente conclusivos.

Quanto ao aspecto regulatório, é imprescindível destacar que o *USEPA* optou por utilizar o *BLM* para atualizar o seu critério de qualidade da água (toxicidade aguda), visto que o modelo leva em conta todas as complexações importantes do cobre (orgânicas e inorgânicas), assim como a competição com outros cátions no ligante biótico. A capacidade do modelo em incorporar as reações de especiação do metal e as interações com os organismos permite prever os efeitos para uma grande variedade de espécies e para um vasto leque de condições de qualidade da água. Assim, o *BLM* foi considerado como uma ferramenta atraente para derivar critérios de qualidade da água, pois tem o potencial de reduzir substancialmente a necessidade de fazer ajustes em critérios de qualidade de água locais (ex: *WER* – *water effect ratio*). O critério de qualidade de água (*WQC* – *water quality criteria*) baseado no *BLM* poderá, em alguns casos, se mostrar mais severo que o anterior, baseado apenas na dureza, e em outros, mais brando (*USEPA*, 2007).

A comparação entre o parâmetro regulatório brasileiro (valor máximo permitido – VMP - Resolução CONAMA 357, 2005) e demais índices obtidos neste estudo (item 5.4)

não tem, obviamente, a pretensão de mudar a legislação. Entretanto, aponta para a necessidade de se começar a pensar seriamente na possibilidade do estabelecimento de critérios de qualidade de água locais, com base nas características físico-químicas dos diferentes meios, num país de dimensões continentais e com ecossistemas e biomas tão diversos. Por certo, esta revisão deveria vir acompanhada pela obtenção de uma base mais ampla e consistente de informações sobre organismos (toxicidade) e ambientes brasileiros.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES

- A variabilidade dos parâmetros físico-químicos nas duas áreas estudadas (Mina do Sossego e Projeto Salobo) refletiu-se diretamente nos resultados de toxicidade aguda, visto que uma maior solubilização de cátions e ânions para os cursos d'água, correlacionada à atividade da Mina do Sossego, contribuiu significativamente para a atenuação dos efeitos adversos do cobre e diminuição da toxicidade.

- Os parâmetros pH, alcalinidade, cloreto, Mg, Ca, Na, K, sulfato e carbono orgânico dissolvido, quando analisados separadamente, por campanha, mostraram forte correlação com a toxicidade aguda, devido a efeitos combinados da especiação, complexação do cobre e competição pela ligação deste com outros metais no ligante biótico, resultando numa diminuição da toxicidade quando ocorreu o aumento nos valores destes parâmetros (efeito protetor para a biota aquática).

- Para a toxicidade aguda, pode-se afirmar que o modelo mostrou-se robusto porque conseguiu prever a toxicidade do cobre com grande margem de acerto, para duas áreas diferentes na região de Carajás e em duas campanhas de campo.

- Para a toxicidade crônica, uma análise integrada dos resultados para as três campanhas mostrou que estes não seguiram um mesmo padrão, ocorrendo diferenças significativas entre eles; assim, apesar do *BLM* ter sido capaz de modelar significativa parte dos pontos (2/3), que se encontram dentro da faixa de aceitação, não teve sensibilidade suficiente para separar os valores de toxicidade por área amostrada e por época (sazonalidade), indicando um elevado grau de incerteza na interpretação dos resultados.

- Do ponto de vista regulatório, comparando-se os resultados dos critérios de qualidade de água obtidos a partir do *BLM* com o valor máximo permitido (VMP) da norma brasileira (Resolução CONAMA 357/2005), pode-se dizer que, apesar do pequeno número de amostras coletadas em cada área e também do número restrito de campanhas de campo, o VMP para cobre em águas Classe 2 (0,009 mg/L), segundo a norma brasileira, mostrou-se consistente para a proteção de comunidades aquáticas na área do Projeto Salobo, mas relativamente conservador para a área da Mina do Sossego.

- Os resultados obtidos permitem elaborar análises de risco ambiental mais consistentes para as áreas de mineração de cobre estudadas, tendo em vista que está sendo apresentada uma “linha de base” com resultados físico-químicos e toxicológicos para as amostras de água das duas áreas.

CAPÍTULO 7: RELEVÂNCIA DOS RESULTADOS

A relevância dos resultados apresentados está baseada nos seguintes fatos:

- (i) caracterização físico-química de alguns corpos hídricos na região de Carajás, Pará, permitindo fazer uma avaliação da variação sazonal dos resultados e também uma comparação entre uma área já com atividade de mineração em operação e outra com mínimo impacto antrópico;
- (ii) apresentação de dados inéditos sobre toxicidade aguda e crônica para cobre, medidas em laboratório, em alguns corpos hídricos da região de Carajás, Pará;
- (iii) apresentação de dados inéditos sobre toxicidade aguda e crônica para cobre, previstos a partir da aplicação do modelo *Biotic Ligand Model*, em alguns corpos hídricos da região de Carajás, Pará;
- (iv) trata-se de um dos primeiros estudos com aplicação do *BLM* em ambiente amazônico, permitindo avaliar sua eficácia na predição dos resultados de toxicidade aguda e crônica para *Ceriodaphnia dubia*;
- (v) a partir da aplicação do modelo, foi possível comparar diferentes índices de proteção das comunidades aquáticas para cobre, tanto para toxicidade aguda como crônica, com valores da norma regulatória brasileira, mostrando a necessidade de se obter dados mais específicos e consistentes no estabelecimento de critérios de qualidade da água nas diferentes regiões do país.

CAPÍTULO 8: SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Apresenta-se a seguir as seguintes sugestões para trabalhos futuros:

- (i) coleta de um maior número de amostras de água, em diferentes pontos e sub-bacias hidrográficas na região de Carajás, em campanhas sazonais, com caracterização físico-química e toxicológica (aguda e crônica) em laboratório, de forma a estabelecer um *background* mais abrangente e seguro para toda esta região de estudo;
- (ii) avaliação da possibilidade de utilização de organismos-teste mais característicos de ambientes tropicais nos bioensaios de toxicidade em laboratório;
- (iii) avaliação da possibilidade de utilização do modelo *BLM* para estes organismos-teste, com os devidos ajustes, para comparação com os resultados medidos em laboratório e verificação da eficácia da predição;
- (iv) avaliação da influência dos diferentes parâmetros físico-químicos na toxicidade aguda e crônica, determinando-se os mais relevantes em diferentes condições naturais;
- (v) utilização dos resultados do *BLM* em análises de risco ambiental para as áreas de mineração de cobre estudadas;
- (vi) envolvimento dos agentes regulatórios brasileiros nas discussões sobre o estabelecimento de critérios de proteção das comunidades aquáticas, com esclarecimentos sobre o modelo *BLM* e seu histórico de utilização em outros países (ex: *EPA*, Estados Unidos da América).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT (1987) Preservação e Técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores – Norma NBR 9898. Rio de Janeiro

ABNT (2005) Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Norma NBR 13373. Rio de Janeiro, ABNT, 15 p.

Almeida, D.F. (2006) Aplicação do Modelo do Ligante Biótico – *BLM* – para a predição da biodisponibilidade de zinco nas águas do Rio São Francisco, Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, (Dissertação, Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Minas).

Aiken, G. R. *In Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization*; Aiken, G. R.; Mcknight, M. D.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P., Eds.; John Wiley & Sons; New York, 1985; p 363-385.

Batley, G.E., Apte, S.C. e Stauber, J.L. (2004) Speciation and Bioavailability of Trace Metals in Water: Progress Since 1982, *Aust. J. Chem*, v.57, p.903-919.

Bell, R.A., Ogden, N. e Kramer, J.R. (2002) The biotic ligand model and a cellular approach to class B metal aquatic toxicity, In: *2001 SETAC Annual Meeting*, Baltimore, USA, Comparative Biochemistry and Physiology Part C 133, p. 175-188.

Benedetti, M., Ranville, J.F., Ponthieu, M., Pinheiro, J.P. (2002) Field-flow fractionation characterization and binding properties of particulate and colloidal organic matter from the Rio Amazon and Rio Negro, *Organic Geochemistry*, v.33, p. 269–279.

Bianchini, A. e Bowles, K.C. (2002) Metal sulfides in oxygenated aquatic systems: implications for the biotic ligand model, In: *2001 SETAC Annual Meeting*, Baltimore, USA, Comparative Biochemistry and Physiology Part C 133, p. 51-64.

Borgmann, U., Norwood, W.P., Dixon, D.G. (2008) Modelling bioaccumulation and toxicity of metal mixtures, *Human and Ecological Risk Assessment*, v. 14, p. 266-289.

Bossuyt, B.T.A., De Schampelaere, K.A.C., Janssen, C.R. (2004) Using the Biotic Ligand Model for Predicting the Acute Sensitivity of Cladoceran dominated Communities to Copper in Natural Surface Waters, *Environ. Sci. Technol.*, v.38, n. 19, p. 5030-5037.

Bossuyt, B.T e Jansen, C.R. (2001) Acclimation of the freshwater crustacean *Daphnia magna* to copper: changes in tolerance and energy allocation. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen van de Universiteit Gent*, v.66, p191-195.

Campbell, P.G.C. (1995) Interactions between Trace Metals and Aquatic Organisms: a critique of the Free-Ion Activity Model, In: Andre Tessier e David R. Turner (Eds.) *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, Chichester, New York, John Wiley & Sons, p. 45-102 (*apud* Di Toro *et al.*, 2001).

Carvalho, E.R., Xavier, R.P., Monteiro, L.V.S., Souza Filho, C.R. (2005) Geology and hydrothermal alteration of the Sossego iron oxide-copper-gold deposit, Carajás Mineral Province, Brazil. *In: Simpósio Brasileiro de Metalogenia*, 1, CD-Rom.

Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasília. 357; Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília, 2005. 24 p.

Costa, J.B.S., Araújo, O.J.B., Santos, A., Jorge João, X.S., Macambira, M.J.B., Lafon, J.M. (1995) A Província Mineral de Carajás: aspectos tectono-estruturais, estratigráficos e geocronológicos. *Bol. Museu Paraense Emílio Goeldi*, v.7, p. 199-235

De Schamphelaere, K.A.C e Jansen, C.R. (2002) A Biotic Ligand Model predicting acute copper toxicity for *Daphnia magna*: the effects of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH, *Environ. Sc. Technol.*, v. 36, p. 48-54.

De Schamphelaere, K.A.C., Heijerick, D.G. e Jansen, C.R. (2002) Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*, *In: 2001 SETAC Annual Meeting*, Baltimore, USA, Comparative Biochemistry and Physiology Part C 133, p. 243-258.

De Schamphelaere, K.A.C e Jansen, C.R. (2004a) Development and field validation of a Biotic Ligand Model predicting chronic copper toxicity to *Daphnia magna*, *Environ. Tox. Chem.*, v. 23, p. 1365-1375.

De Schamphelaere, K.A.C e Jansen, C.R. (2004b) Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*, *Environ. Tox. Chem.*, v. 23, p. 1115-1122.

De Schamphelaere, K.A.C; Vasconcelos, F.M.; Tack, F.M.G.; Allen, H.E.; Jansen, C.R. C.R. (2004) Effect of dissolved organic matter source on acute copper toxicity to *Daphnia magna*, *Environ. Tox. Chem.*, v. 23, p. 1248-1255.

De Schamphelaere, K.A.C.; Bossuyt, B.T.A.; Janssen, C.R. (2007) Variability of the protective effect of sodium on the acute toxicity of copper to freshwater cladocerans. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.26, n.3, p. 535-542.

Di Toro, D.M.; Allen, H.E.; Bergman, H.L.; Meyer, J.S.; Paquin, P; Santore, R.C. (2000) *The Biotic Ligand Model – a computational approach for assessing the ecological effects of copper and other metals in aquatic systems*. International Copper Association, Ltd, New York, NY. 130 p. (Published as part of the Environmental Program in a series on Copper in the Environment and Health).

Di Toro, D.M.; Allen, H.E.; Bergman, H.L.; Meyer, J.S.; Paquin, P.; Santore, R.C. (2001) Biotic Ligand Model of the acute toxicity of metals.1. Technical Basis, *Environmental Toxicology and Chemistry*, USA, v.20, n. 10, p. 2383-2396.

DOCEGEO. Revisão litoestratigráfica da Província Mineral de Carajás – litoestratigrafia e principais depósitos minerais. *In: SBG, Congr. Bras. Geol.*, 35, Anexo aos anais, p. 11-54.

Erickson, R.J., Benoit, D.A., Mattson, V.R., Nelson Jr., H.P. e Leonard, E.N. (1996) The Effects of Water Chemistry on the Toxicity of Copper to Fathead Minnows,

Environmental Toxicology and Chemistry, v. 15, p. 181-193 (*apud* Di Toro *et al.*, 2000 e 2001).

Galvez, F., Hogstrand, C., Wood, C.M. (1998). Physiological responses of juvenile rainbow trout to chronic low level exposure to waterborne silver. *Comp. Biochem. Physiol.* C119, 131–137 (*apud* Paquin *et al.*, 2002).

Galvez, F., Wood, C.M. (2002) The mechanisms and costs of physiological and toxicological acclimation to waterborne silver in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Comp. Physiol.* B, 2002 (*apud* Paquin *et al.*, 2002).

Gelber, R.D.; Lavin, P.T.; Mehta, C.R.; Schoenfeld, D.A. (1985) Statistical analysis, In: Rand, G.M. e Petrocelli, S.R. (eds) *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, Washington, Hemisphere Publ. Co., p. 110-23 (*apud* TECAM, 2007).

Gensemer, R.W., Naddy, R.B., Stubblefield, W.A., Hockett, J.R., Santore, R., Paquin, P. (2002) Evaluating the role of ion composition on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia* in very hard water, In: *2001 SETAC Annual Meeting*, Baltimore, USA, Comparative Biochemistry and Physiology Part C 133, p. 87-97 (*apud* Nyiogi, S. e Wood, C.M., 2004).

Heijerick, D.G., De Schampelaere, K.A.C., Janssen, C.R. (2002) Predicting acute zinc toxicity for *Daphnia magna* as a function of key water chemistry characteristics: development and validation of a biotic ligand model. *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 21, p. 1309–1315 (*apud* Paquin *et al.*, 2002).

Hollis, L., Muench, L., Playle, R. (1997) Influence of dissolved organic matter on copper binding, and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout, *Journal of Fish Biology*, v. 50, p. 703-720 (*apud* Di Toro *et al.*, 2001).

HydroQual (2007) *The Biotic Ligand Model Windows Interface, Version 2.2.3: User's Guide and Reference Manual*, Inc, Mahwah, NJ

ICMM (International Council on Mining and Metals). MERAG – Metals Environmental Risk Assessment Guidance (2007). London, UK, 2007.

Janes, N. and Playle, R.C. (1995) Modelling Silver Binding to Gills of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Sci. Technol.*, v. 30, p. 1687-1698. (*apud* Di Toro *et al.*, 2000).

Hyne, R.V.; Pablo, F.; Julli, M.; Markich S.J. (2005) Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia cf dubia*, *Env. Toxicol. and Chem.*, v. 24, p. 1667-1675.

Janssen, C.R.; D.G. Heijerick, D.G.; De Schampelaere, K.A.C.; Allen, H.E. (2003) Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability, *Environment International*, v.28, p. 793– 800.

Kamo, M. e Nagai, T. (2008) An application of the biotic ligand model to predict the toxic effects of metal mixtures, *Env. Toxicol. and Chem.*, v. 27, p. 1479-1487.

Kim, S.D.; Gu, M.B.; Allen, H.E.; Cha, D.K (2001) Physicochemical factors affecting the sensitivity of *Ceriodaphnia dubia* to copper, *Env. Monitoring and Assessment*, v. 70, p. 105-116.

Lauren, D.J. e Wood, C.M. (1987) Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: physiology, *Can. J. Fish.Aquat. Sci.* , v.44, p. 99–104 (*apud Paquin et al.*, 2002)

Lindenmayer, Z.G. *Salobo Sequence, Carajás, Brasil: Geology, Geochemistry and Metamorphism*. Ph.D. thesis, University of Ontario, 407 p.

Long, K.E., van Gerderen, E.J. e Klaine, S.J. (2004), *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 23, p. 72-75

McGeer, J.C., Playle, R.C., Wood, C.M. e Galvez, F. (2000) A Physiologically Based Biotic Ligand Model for Predicting the Acute Toxicity of Waterborne Silver to Rainbow Trout in Freshwaters, *Environ. Sci. Technol.*, v. 34, p. 4199-4207 (*apud Paquin et al.*, 2002)

MacRae, R.K. (1994). The Copper Binding Affinity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Gills, Univ. of Wyoming (MS Thesis. Dept. Zoology and Phisiology). (*apud Di Toro et al.*, 2000).

MacRae, R.K., Smith, D.E., Swoboda-Colberg, N., Meyer, J.S., Bergman, H.L., (1999) Copper Binding Affinity of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Gills: Implications for Assessing Bioavailable Metals, *Env. Toxicol. Chemistry*, v. 18, p. 1180-1189 (*apud Di Toro et al.*, 2001).

Morel, F.M. (1983) Principles of Aquatic Chemistry , New York, J. Wiley & Sons.

Naddy, R.B., Stubblefield, W.A., May, J.R., Tucker, S.A. e Hockett, J.R. (2002) The effect of calcium and magnesium ratios on the toxicity of copper to five aquatic species in freshwater, *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 21, p. 347-352 (*apud Paquin et al.*, 2002).

Nyogi, S. e Wood, C.M. (2004) Biotic Ligand Model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals, *Environ. Sci. Technol.*, v. 38, n. 23, p. 6177-6192.

Pagenkopf, G.K., Russo, R.C., Thurston, R.V. (1974) Effect of Complexation on Toxicity of Copper to Fishes, *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. v. 31, p. 462-465 (*apud Di Toro et al.*, 2000).

Pagenkopf, G.K. (1983) Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH, and Water Hardness, *Environ. Sci. Technol.*, v. 17, p. 342-347.

Paquin, P.R., Di Toro, D.M., Santore, R.C., Trivedi, D. e Wu, K.B. (1999) A biotic ligand model of the acute toxicity of metals. III. Application to fish and Daphnia exposure to silver. Integrated Approach to Assessing the Bioavailability and Toxicity of Metals in Surface Waters and Sediments, Section 3, a submission to the EPA Science Advisory Board, Office of Water. Office of Research and Development, Washington, DC, pp. 3-59–3-102. USEPA-822-E-99-001.

Paquin, P.; Gorsuch, J.W.; Apte, S.; Batley, G.E.; Bowles, K.C.; Campbell, P.G.C.; Delos, C.G.; Do Toro, D.M.; Dwyer, R.L.; Galvez, F.; Gensemer, R.W.; Goss, G.G.; Hogstrand, C.; Janssen, C.R.; McGeer, J.C.; Naddy, R.B.; Playle, R.C.; Santore, R.C.; Schneider, U.; Stubblefield, W.A.; Wood, C.M.; Wu, K.B. (2002) The Biotic Ligand Model: a historic overview, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 133, p.3-35.

Peters, J.C.T. *Copper, Environment and Human Health*, Santiago, Comisión Chilena del Cobre, 2003, 81 p.

Playle, R.C., Gensemer, R.W. e Dixon, D.G. (1992) Copper Accumulation on Gills of Fathead Minnows: Influence of Water Hardness, Complexation and pH on the Gill Microenvironment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 11, p. 381-391

Pagenkopf, G.K., Russo, R.C., Thurston, R.V. (1974) Effect of Complexation on Toxicity of Copper to Fishes, *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. v. 31, p. 462-465 (*apud Paquin et al.*, 2002).

Playle, R.C., Dixon, D.G. e Burnison, K. (1993a) Copper and Cadmium Binding to Fish Gills: Modification by Dissolved Organic Carbon and Synthetic Ligands, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v. 50, p. 2667-2677

Pagenkopf, G.K., Russo, R.C., Thurston, R.V. (1974) Effect of Complexation on Toxicity of Copper to Fishes, *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. v. 31, p. 462-465 (*apud Paquin et al.*, 2002).

Playle D.G, Dixon, D.G. e Burnison, K. (1993b) Copper and Cadmium Binding to Fish Gills: Estimates of Metal-Gill Stability Constantes and Modelling of Metal Accumulation, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v. 50, p. 2678-2687 (*apud Paquin et al.*, 2002).

Playle, R.C. (1998) Modelling Metal Interactions at Fish Gills, *The Science of the Total Environment*, v. 219, p. 147-163.

Playle, R.C. (2004) Using multiple metal-gill binding models and the toxic unit concept to help reconcile multiple-metal toxicity results, *Aquatic Toxicology*, v.67, p. 359-370.

Reiley, M.C. (2007) Science, policy, and trends of metals risk assessment at EPA: How understanding metals bioavailability has changed metals risk assessment at US EPA, *Aquatic Toxicology*, v. 84, p. 292–298.

Ryan, A.C., Tomasso, J.R., Klaine, S.J.(2009) Influence of pH, hardness, dissolved organic carbon concentration and dissolved organic matter source on the acute toxicity of copper to *Daphnia magna* in soft waters: implications for the biotic ligand model, *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.28, p. 1663-1670

Santore, R.C. e Driscoll, C.T. (1995) The CHESS Model for Calculating Chemical Equilibria in Soils and Solutions, In: R. Loeppert, A.P. Schwab e S. Goldberg (Ed.), *Chemical Equilibrium and Reaction Models*, Madison, WI: American Society of Agronomy, p. 357-375.

Santore, R.C., Di Toro, D.M., Paquin, P.R., Allen, H.E., Meyer, J.S. (2001) A biotic ligand model of the acute toxicity of metals. II. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*, *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 20, p. 2397–2402.

Schwartz, M.L. e Vigneault, B. (2007) Development and validation of a chronic copper biotic ligand model for *Ceriodaphnia dubia*, *Aquatic Toxicology*, v. 84, p.247–254.

Slaveykova, V.I. and Wilkinson, K.J. (2005) Predicting the bioavailability of metals and metal complexes: critical review of Biotic Ligand Model, *Environmental Chemistry*, v. 2, p. 9-24.

Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Sunda, W.G. e Hansen, P.J. (1979) Chemical Speciation of Copper in River Water: Effect of Total Copper, pH, Carbonate, and Dissolved Organic Matter, In: ACS Symposium Series 93. Washington, DC, Chemical Modeling in Aqueous Systems, E.A. Jenne (ed.), p. 147-180 (*apud* Di Toro *et al.*, 2000).

Szebedinszky, C., McGeer, J.C., McDonald, D.G., Wood, C.M. (2001). Effects of chronic Cd exposure via the diet or water on internal organ-specific distribution and subsequent gill Cd uptake kinetics in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 20, p. 597–607 (*apud* Paquin *et al.*, 2002).

TECAM (2007) Teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia Dubia* para o Projeto Cobre - Relatório Final RL0932/2007 – 2.0 CD – Crônico, São Paulo, 22 p.

TECAM (2007) Teste de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia Dubia* para o Projeto Cobre Relatório Final RL0932/2007 – 1.0CD-Agudo-A; São Paulo, 13 p.

Tipping, E. e Hurley, M. (1992) A unifying model of cation binding by humic substances, *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 56, p.3627-3641 (*apud* Di Toro *et al.*, 2001).

Tipping, E. (1993) Modeling the competition between alkaline earth cations and trace metals species for binding by humic substances, *Environ. Sci. Technol.*, v.27, p. 520-529 (*apud* Di Toro *et al.*, 2001).

Tipping, E. (1994). WHAM – A computer equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances, *Computers & Geosciences*, v. 20(6), p. 973-1023 (*apud* Di Toro *et al.*, 2001).

Vasconcelos, F. M, Ciminelli, V.S.T.; Oliveira, R.P., Silva, R.J.(2004). Determinação da especiação química e potencial de mobilidade do arsênio em sítios de mineração. *Geochimica Brasiliensis*, Rio de Janeiro, v. 18, p. 115-120.

Villavicencio, G., Urrestarazu, P., Carvajal, C., De Schamphelaere, K.A.C., Jansen, C.R., Torres, J.C. e Rodriguez, P.H. (2005) Biotic Ligand Model prediction of copper to daphnids in a range of natural waters in Chile, *Environ. Tox. Chem.*, v.24, p. 1287-1299.

USEPA, *EPA-SAB-EETFC 85-001*; Water Criteria for the Protection of Aquatic Life and Human Health, Washington, 1985.

USEPA, *EPA-823-B-94-001*; Interim Guidance on the Determination and Use of Water-Effect Ratios (WERs) for Metals, Washington, 1994.

USEPA, *EPA260-F-01-003*; Fact Sheet. EPA Announces New Toxics Release Inventory Reporting Requirements for Lead and Lead Compounds New Rule Effective, Washington, 2001.

USEPA, *EPA-821-R-02-012*; Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, Washington, 2002.

USEPA, *EPA-821-R-02-013*; Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. 4.ed., Washington, 2002.

USEPA, *EPA-822-R-07-001*; Aquatic Life Ambient Freshwater Quality Criteria-Copper 2007 Revision, Washington, 2007. 204 p.

Welsh, P.G., Lipton, J., Chapman, G.A. e Prodabsky, T.L. (2000) Relative importance of calcium and magnesium in hardness-based modification of copper toxicity, *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 19, p. 1624-1631 (*apud Paquin et al.*, 2002).

Williams, D.A. (1971) A test for differences between treatment means when several doses levels are compared with a zero dose control, *Biometrics*, v. 27, p. 103-17 (*apud TECAM*, 2007).

Williams, D.A. (1972) The comparison of several dose levels with a zero dose control. *Biometrics*, v. 28, p.519-31 (*apud TECAM*, 2007).

Wood, C., Playle, R. e Hogstrand, C. (1999) Physiology and Modeling of Mechanisms of Silver Uptake and Toxicity in Fish, *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 18, p. 71-83 (*apud Di Toro et al.*, 2000).

Wood, C.M., Adams, W.J., Ankley, G.T., DiBona, D.R., Luoma, S.N., Playle, R.C., Stubblefield, W.A., Bergman, H.L., Erickson, R.J., Mattice, J.S. e Schlekot, C.E.. (1997) Environmental Toxicology of Metals, In: *Reassessment of Metals Criteria for Aquatic Life Protection: Priorities for Research and Implementation*, Bergman, H.L. and E.J. Dorward-King, eds., Proceedings of the Pellston Workshop on Reassessments of Metals Criteria for Aquatic Life Protection, February 10-14, 1996. Pensacola, Florida: SETAC Press (*apud Di Toro et al.*, 2000).

Zar, J.H. (1999) *Biostatistical Analysis*. 4.ed. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice-Hall, Inc. (*apud TECAM*, 2007)

ANEXOS

ANEXO I

Fotos obtidas durante a realização das
campanhas de campo



Projeto Salobo



Travessia Rio Itacalunas – Projeto Salobo



Ponto SB1



Ponto SB1



Ponto SB2



Ponto SB2



Ponto SB3



Ponto SB3



Ponto 881



Ponto 881



Ponto 881



Ponto 881



Ponto 882



Ponto 882



Ponto 883



Ponto 883

ANEXO II

Fotos obtidas durante a realização dos bioensaios no laboratório TECAM e *C. dubia*



Solução "mãe" e soluções-teste, com diferentes concentrações de cobre



Bandeja com béqueres para teste de toxicidade crônica. O gradiente mostra a diluição da amostra, até o controle incolor.



Pesagem de amostra líquida



Transferência da fêmea adulta de um frasco com solução-teste "antigo" para outra com solução recém-preparada. Na sequência, é feita contagem dos jovens nascidos no frasco "antigo".



Diluição seriada da amostra: retirada de volume definido de uma solução (balão de trás e béquer) para preparar outra mais diluída (balão da frente, vazio). Transfere-se uma parte da solução mais concentrada para o béquer, para facilitar a retirada da alíquota com micropipeta.



Photograph by James Sweider

Ceriodaphnia dubia com ovos na câmara de incubação (nas costas).

ANEXO III

Laudos das análises químicas das três campanhas (SGS-GEOSOL e Laboratório de Processamento Aquoso do Departamento de Metalurgia e Materiais - DEMET/UFMG) e tabela-resumo de todos os parâmetros físico-químicos medidos em campo e em laboratório

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

quarta-feira, 27 de setembro de 2006

Data rec. : 23 agosto 2006

SGL Report : LG4315-AUG06

Ref. Cliente : Carta nº:

GAD-ALMO-001/06

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simão da Cunha
 Santa Luzia-MG.
 Cep: 33.040-900

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	data_rece data_rece	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SS1-C1	23/08/06	102	102	N.D.	9.3	0.08
2: SS2-C1	23/08/06	56	56	N.D.	6.8	0.17
3: SS3-C1	23/08/06	129	129	N.D.	13	< 0.05
4: SB1-C1	23/08/06	31	31	N.D.	4.4	0.20
5: SB2-C1	23/08/06	34	34	N.D.	5.4	0.18
6: SB3-C1	23/08/06	36	36	N.D.	4.4	0.21
7-STD: ARAMB	---	10	---	---	20	0.24

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L	Cu Dis. mg Cu/L
1: SS1-C1	9.83	8.93	15.3	11.8	< 0.01	< 0.01
2: SS2-C1	7.84	6.88	7.65	6.10	< 0.01	< 0.01
3: SS3-C1	12.5	12.4	22.0	19.7	< 0.01	< 0.01
4: SB1-C1	2.45	2.41	4.64	2.87	< 0.01	< 0.01
5: SB2-C1	2.39	2.11	4.32	2.69	< 0.01	< 0.01
6: SB3-C1	2.52	2.35	4.86	2.45	< 0.01	< 0.01
7-STD: ARAMB	---	---	---	---	0.05	0.05

Sample ID	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L
1: SS1-C1	13.6	12.0	3.03	2.42	0.13	0.04
2: SS2-C1	4.83	4.16	1.17	1.09	0.03	< 0.02
3: SS3-C1	21.5	21.5	3.60	3.57	0.15	< 0.02
4: SB1-C1	4.01	3.09	1.61	1.45	0.02	< 0.02
5: SB2-C1	4.15	3.76	1.95	1.80	0.03	0.03
6: SB3-C1	4.57	4.24	1.58	1.46	0.03	0.03
7-STD: ARAMB	0.32	0.32	0.62	0.62	0.16	0.16

Sample ID	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L
1: SS1-C1	0.63	< 0.05	< 0.05	151	13.0	2.93	< 0.002
2: SS2-C1	0.19	< 0.05	< 0.05	103	< 10.0	2.70	< 0.002
3: SS3-C1	< 0.05	< 0.05	< 0.05	166	< 10.0	3.11	< 0.002
4: SB1-C1	1.47	0.33	< 0.05	52.7	10.7	2.26	< 0.002
5: SB2-C1	1.40	0.21	< 0.05	62.7	12.0	2.20	< 0.002
6: SB3-C1	1.47	0.29	< 0.05	61.4	15.7	2.23	< 0.002
7-STD: ARAMB	0.12	0.12	0.48	184	---	10.4	---

SGL Report : LG4315-AUG06

Sample ID	data_rece data_rece	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
8: Data de realização dos ensaios	---	23-ago-06	23-ago-06	23-ago-06	13-set-06	24-ago-06
9: Método	---	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L	Cu Dis. mg Cu/L
8: Data de realização dos ensaios	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06
9: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L
8: Data de realização dos ensaios	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06	06-set-06
9: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L
8: Data de realização dos ensaios	06-set-06	06-set-06	06-set-06	29-ago-06	29-ago-06	11-set-06	24-ago-06
9: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500 S2- E

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra analisada em duplicata para sólidos suspensos erro médio 4.69%

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

sexta-feira, 2 de março de 2007
Data rec. : 26 janeiro 2007
SGL Report : SG4355-JAN07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAM-ALMO-001/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simão da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L	Mg Total mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L
1: SS1-C2	52	52	N.D.	9.4	0.05	5.65	11.1
2: SS2-C2	40	40	N.D.	4.4	< 0.05	5.39	7.58
3: SS3-C2	53	53	N.D.	9.4	0.06	5.68	11.4
4-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.25	---	---
5: Data de realização dos ensaios	26-jan-06	26-jan-07	26-jan-07	29-jan-07	27-jan-07	13-fev-07	13-fev-07
6: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Total mg Cu/L	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	K Total mg K/L	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L
1: SS1-C2	< 0.01	< 0.01	17.9	3.76	0.14	0.10	2.26
2: SS2-C2	< 0.01	< 0.01	6.14	1.47	0.06	0.02	1.62
3: SS3-C2	< 0.01	< 0.01	18.7	4.20	0.18	0.13	2.13
4-STD: ARAMB	0.07	0.07	0.35	0.79	0.13	0.13	0.14
5: Data de realização dos ensaios	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07
6: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SS1-C2	1.47	0.17	146	10.0	4.44	< 0.002	0.37	7.66
2: SS2-C2	0.72	< 0.05	83.7	< 10	2.16	< 0.002	0.28	7.73
3: SS3-C2	1.60	< 0.05	157	13.0	5.88	< 0.002	0.15	7.70
4-STD: ARAMB	0.14	0.42	209	---	10.9	---	0.42	6.89
5: Data de realização dos ensaios	13-fev-07	13-fev-07	30-jan-07	30-jan-07	20-fev-07	30-jan-07	13-fev-07	26-jan-07
6: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21ª Ed. (2005).

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
 Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

sexta-feira, 2 de março de 2007
Data rec. : 29 janeiro 2007
SGL Report : SG4356-JAN07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAM-ALMO-001/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simão da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L	Mg Total mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L
1: SB1-C2	26	26	N.D.	2.5	0.08	4.58	4.98
2: SB2-C2	24	24	N.D.	2.5	0.08	3.92	4.34
3: SB3-C2	25	25	N.D.	< 2.0	0.08	3.79	3.58
4-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.24	---	---
5: Data de realização dos ensaios	29-jan-07	29-jan-07	29-jan-07	06-fev-07	30-jan-07	13-fev-07	13-fev-07
6: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500CI-B	4500NO3-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Total mg Cu/L	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	K Total mg K/L	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L
1: SB1-C2	< 0.01	< 0.01	4.83	1.45	0.04	0.02	1.46
2: SB2-C2	< 0.01	< 0.01	4.22	1.33	0.05	0.03	1.80
3: SB3-C2	< 0.01	< 0.01	6.64	2.01	0.06	0.03	2.13
4-STD: ARAMB	0.07	0.07	0.35	0.79	0.13	0.13	0.14
5: Data de realização dos ensaios	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07	13-fev-07
6: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SB1-C2	0.81	< 0.05	82.0	42.0	1.92	< 0.002	0.65	7.56
2: SB2-C2	0.60	< 0.05	75.4	11.7	1.67	< 0.002	0.33	7.43
3: SB3-C2	1.17	0.14	61.4	14.7	3.79	< 0.002	0.35	7.44
4-STD: ARAMB	0.14	0.42	209	---	10.9	---	0.42	6.89
5: Data de realização dos ensaios	13-fev-07	13-fev-07	30-jan-07	30-jan-07	20-fev-07	30-jan-07	13-fev-07	26-jan-07
6: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N. D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21º Ed. (2005).

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
 Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 05 julho 2007
SGL Report : SG4123-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-001/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SS1-C3	72	72	N.D.	8.8	0.11
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	05-jul-07	05-jul-07	05-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SS1-C3	8.77	7.95	10.8	8.94	< 0.01
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.10	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SS1-C3	< 0.01	10.8	10.7	1.71	1.56
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SS1-C3	0.08	0.04	0.62	0.45	0.14
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SS1-C3	142	12.0	4.84	< 0.002	0.19	7.87
2-STD: ARAMB	196	---	9.65	---	0.49	6.89
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	06-jul-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	05-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido à alteração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 05 julho 2007
SGL Report : SG4124-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-001/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SS2-C3	40	40	N.D.	3.9	0.12
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	05-jul-07	05-jul-07	05-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SS2-C3	6.92	6.33	4.70	4.70	0.03
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.09	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SS2-C3	< 0.01	3.88	3.73	0.63	0.62
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SS2-C3	0.03	< 0.02	0.66	0.52	0.14
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SS2-C3	44	11.5	2.24	0.002	0.14	7.42
2-STD: ARAMB	196	---	9.65	---	0.49	6.89
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	01-ago-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	05-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido à alteração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 05 julho 2007
SGL Report : SG4125-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-001/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SS3-C3	106	97	8.9	15	0.25
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	05-jul-07	05-jul-07	05-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SS3-C3	10.9	9.68	22.4	20.3	0.02
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.09	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SS3-C3	0.02	21.6	21.6	3.86	3.83
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SS3-C3	0.06	0.04	0.23	0.23	0.15
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SS3-C3	183	11.0	17.6	< 0.002	0.15	8.25
2-STD: ARAMB	196	---	9.65	---	0.49	6.89
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	01-ago-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	05-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido à alteração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 06 julho 2007
SGL Report : SG4153-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-002/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha
 Santa Luzia/MG
 Cep: 33.040-900

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SB1-C3	26	26	N.D.	2.4	0.24
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	06-jul-07	06-jul-07	06-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SB1-C3	4.87	4.50	3.66	3.04	< 0.01
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.09	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SB1-C3	< 0.01	3.37	3.20	< 0.50	< 0.50
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SB1-C3	< 0.02	< 0.02	0.94	0.56	0.15
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SB1-C3	38	11.5	1.98	0.002	0.14	7.94
2-STD: ARAMB	196	---	9.60	---	0.49	6.88
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	01-ago-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido à alteração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 06 julho 2007
SGL Report : SG4154-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-002/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SB2-C3	25	25	N.D.	< 2.0	0.15
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	06-jul-07	06-jul-07	06-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SB2-C3	4.82	2.34	3.45	2.55	< 0.01
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.09	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SB2-C3	< 0.01	3.31	2.91	< 0.50	< 0.50
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SB2-C3	< 0.02	< 0.02	0.72	0.41	0.13
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SB2-C3	38	12.5	2.05	< 0.002	0.13	7.16
2-STD: ARAMB	196	---	9.60	---	0.49	6.88
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	01-ago-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido à alteração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

SGS GEOSOL LABORATÓRIOS LTDA.

Rua São Vicente, 255B - Belo Horizonte - MG
 Bairro Olhos d'Água - Cep: 30.390-570
 Fone: (31) 2122-0022 - Fax: (31) 2122-0023

CVRD- Gamik
 Attn : Patricia Cristina

terça-feira, 7 de agosto de 2007
Data rec. : 06 julho 2007
SGL Report : SG4155-JUL07
Ref. Cliente : Carta nº:
 GAD-ALMO-002/07

Br 381 Km 450 - Distrito Industrial Simao da Cunha, Santa Luzia
 MG, Cep: 33.040-900
 Phone: (31) 36914376, Fax:(31) 36914375

CERTIFICADO DE ANÁLISES

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
1: SB3-C3	28	28	N.D.	< 2.0	0.07
2-STD: ARAMB	10	---	---	20	0.23
3: Data de realização dos ensaios	06-jul-07	06-jul-07	06-jul-07	17-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
1: SB3-C3	4.57	2.22	2.79	2.56	< 0.01
2-STD: ARAMB	0.10	0.10	0.09	0.09	0.06
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
1: SB3-C3	< 0.01	4.73	4.33	0.88	0.88
2-STD: ARAMB	0.06	0.36	0.36	0.63	0.63
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
1: SB3-C3	< 0.02	< 0.02	1.42	0.67	0.10
2-STD: ARAMB	0.14	0.14	0.13	0.13	0.49
3: Data de realização dos ensaios	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07	26-jul-07

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
1: SB3-C3	74	18.5	2.96	< 0.002	0.13	7.24
2-STD: ARAMB	196	---	9.60	---	0.49	6.88
3: Data de realização dos ensaios	30-jul-07	01-ago-07	17-jul-07	10-jul-07	26-jul-07	06-jul-07

Sample ID	Alc.Total mg CaCO3/L	Alc.HCO3- mg CaCO3/L	Alc.CO3= mg CaCO3/L	Cloreto mg Cl-/L	N.Nitrico mg NO3-N/L
4: Método	2320-B	2320-B	2320-B	4500Cl-B	4500NO3-B

Sample ID	Mg Total mg Mg/L	Mg Dis. mg Mg/L	Ca Total mg Ca/L	Ca Dis. mg Ca/L	Cu Total mg Cu/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Cu Dis. mg Cu/L	Na Total mg Na/L	Na Dis. mg Na/L	K Total mg K/L	K Dis. mg K/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Mn Total mg Mn/L	Mn Dis. mg Mn/L	Fe Total mg Fe/L	Fe Dis. mg Fe/L	Al Dis. mg Al/L
4: Método	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B	3030,3120-B

Sample ID	Solid.Tot mg solid tot/L	Soli.Susp mg solid susp/L	Sulfato mg SO4/L	Sulfeto mg S2/L	Al Total mg Al/L	pH
4: Método	2540-B	2540 D	4500SO4-E	4500S2-E	3030,3120-B	4500H+-B

Matriz: Líquida (água).

Responsável pela amostragem: Cliente.

Local de amostragem: não informado pelo cliente.

N.D.: Não Detectado.

Amostra com identificação STD: Amostra de Referência para Controle de Qualidade.

Referência Analítica: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater 21^o Ed. (2005).

Este certificado substitui o de mesmo número enviado anteriormente devido ao teração da identificação da carta

Eduardo Lyse Carvalho
CRQ IV 04125181
Diretor Técnico

novaS - Laboratório de Análises Químicas
Laboratório de Análises Químicas – Fone (31) 3238-1802

Dep. de Engenharia Metalúrgica e de Materiais-R. Espírito Santo, 35/206
CEP 30.160-030-B. Horizonte-MG-(31) 3238-1810, Fax:(31)3238-1815
Laq.demet@yahoo.com.br



Certificado nº: 011/06

Data: 04/05/2007

Material: Água de Efluente – Correção dados (SSC3 e SB2)

Solicitante: Flávio Café

Proposta:

Procedência: CVRD

RESULTADOS

Nº Lab.	Referência da Amostra	Cu
261/07	SS1 – C2 Metais Solúveis	5,0 µg/L
262/07	SS1 – C2 Metais Totais	6,9 µg/L
263/07	SS2 – C2 Metais Solúveis	2,5 µg/L
264/07	SS2 – C2 Metais Totais	5,4 µg/L
265/07	SS3 – C2 Metais Solúveis*	3,2 µg/L
266/07	SS3 – C2 Metais Totais*	4,7 µg/L
267/07	SB3 – C2 Metais Totais*	3,3 µg/L
268/07	SB3 – C2 Metais Solúveis*	2,9 µg/L
269/07	SB1 – C2 Metais Totais	5,7 µg/L
270/07	SB1 – C2 Metais Solúveis	2,1 µg/L
271/07	SB2 – C2 Metais Totais	6,0 µg/L
272/07	SB2 – C2 Metais Solúveis	1,4 µg/L

*Enviou-se amostras em duplicatas, porém as identificações não estão claras.

Obs.: 1- O presente resultado só é válido para as amostras enviadas;

2- Determinação de Cobre: Análise por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS) – Perkin Elmer Elan 9000;

Dr. Júlio C. J. Silva

Coordenador do Laboratório de Análises Químicas

novaS - Laboratório de Análises Químicas
Laboratório de Análises Químicas – Fone (31) 3409-1802

Dep. de Engenharia Metalúrgica e de Materiais-R. Espírito Santo, 35/206
CEP 30.160-030-B. Horizonte-MG-(31) 3409-1810, Fax:(31)3409-1815
laq.demet@yahoo.com.br



Certificado nº: 198-07 **Data:** 30/01/2008

Material: Água superficial

Solicitante: Flávio Café

Procedência: CVRD

RESULTADOS

Nº Lab 2007	Ref. Amostra	Cu (µg/L)
2880	SB2-C3 – Metais Solúveis	3,6
2879	SB1-C3 – Metais Totais	4,4
2882	SS1-C3 – Metais Solúveis	6,2
2883	SS1-C3 – Metais Totais	6,6
2881	SB3-C3 – Metais Totais	3,4
2885	SS3-C3 – Metais Solúveis	18,7
2884	SS2-C3 – Metais Totais	28,9

Obs.: 1- O presente resultado só é válido para as amostras enviadas.
2- Determinação por Espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS) – Perkin Elmer Elan 9000.

Dr. Júlio C. J. Silva
Coordenador do Laboratório de Análises Químicas

novaS - Laboratório de Análises Químicas
Laboratório de Análises Químicas – Fone (31) 3409-1802

Dep. de Engenharia Metalúrgica e de Materiais-R. Espírito Santo, 35/206
CEP 30.160-030-B. Horizonte-MG-(31) 3409-1810, Fax:(31)3409-1815
laq.demet@yahoo.com.br



Certificado nº: 117/07

Data: 30/01/2008

Material: água

Solicitante: Flavio Café - CVRD

Proposta:

Procedência: CVRD

RESULTADOS

Nº Lab.	Referência da Amostra	Cobre / $\mu\text{g L}^{-1}$
1894/07	SB1-C3	3,7
1895/07	SB2-C3	5,2
1896/07	SB3-C3	2,8
1897/07	SS1-C3	6,7
1898/07	SS2-C3	25,8
1899/07	SS3-C3	20,0

Obs.: 1- O presente resultado só é válido para as amostras enviadas.

2- Determinação de Cobre: Análise por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). Equipamento ELAN 9000 – Perkin Elmer

Dr. Júlio C. J. Silva
Coordenador do Laboratório de Análises Químicas

Para: Coordenação de Meio Ambiente
CVRD - Cia. Vale do Rio Doce - GEEIM/DIMB
ATT.: Flávio Café
Email: flavio.cafe@cvrld.com.br



LAUDO DE ANÁLISE

Laudó nº: HM 41a/2006.

Procedência da amostra: CVRD – RQ 824830

Serviço solicitado: Análise Carbono Orgânico Total

Número de amostras: 07

Os resultados de análises de carbono orgânico total para as amostras enviadas estão apresentados na Tabela I. As análises foram realizadas no equipamento Shimadzu mod. TOC-VCSN. A análise de carbono total (TC) baseia-se na oxidação ou decomposição de todo carbono contido na amostra a CO₂ no tubo de combustão a 680°C. Na análise de carbono inorgânico (IC) a amostra é acidificação e o gás carbônico gerado pela decomposição dos carbonatos é purgado com O₂ e analisado, o carbono orgânico total (TOC) é obtido pela diferença entre o TC e IC.

Tabela I – Análise de carbono orgânico total (TOC) em amostras aquosas

Código Laboratório	Identificação Amostra	TOC (mg/L)
HM 199/06	SB1-C1	2,7
HM 199/06 rep	SB1-C1	2,9
HM 200/06	SB2-C1	2,9
HM 201/06	SB3-C1	2,6
HM 202/06	SS1-C1	4,1
HM 202/06 rep	SS1-C1	4,6
HM 203/06	SS2-C1	2,5
HM 204/06	SS3-C1	6,9
HM 205/06	SS1-C1 Filtrada	4,4

Belo Horizonte, 19 de Setembro de 2006.

Cláudia Lima, Dr.
Chefe do Laboratório de Processamento Aquoso e
Caracterização de Sólidos Particulados

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

Para: Coordenação de Meio Ambiente
CVRD - Cia. Vale do Rio Doce - GEEIM/DIMB
ATT.: Flávio Café
Email: flavio.cafe@cvrld.com.br



LAUDO DE ANÁLISE

Laudos nº: HM 05/2007.

Procedência da amostra: CVRD – RQ 824830

Serviço solicitado: Análise Carbono Orgânico Total

Número de amostras: 06

Os resultados de análises de carbono orgânico total para as amostras enviadas estão apresentados na Tabela I. As análises foram realizadas no equipamento Shimadzu mod. TOC-VCSN. A análise de carbono total (TC) baseia-se na oxidação ou decomposição de todo carbono contido na amostra a CO₂ no tubo de combustão a 680°C. Na análise de carbono inorgânico (IC) a amostra é acidificação e o gás carbônico gerado pela decomposição dos carbonatos é purgado com O₂ e analisado, o carbono orgânico total (TOC) é obtido pela diferença entre o TC e IC.

Tabela I – Análise de carbono orgânico total (TOC) em amostras aquosas

Código Laboratório	Identificação Amostra	TOC (mg/L)
HM 10/2007	SS1-C2	13,9
HM 11/2007	SS2-C2	4,4
HM 12/2007	SS3-C2	16,4
HM 12/2007	SS3-C2 rep	17,6
HM 13/2007	SB1-C2	5,99
HM 13/2007	SB1-C2 rep	6,1
HM 14/2007	SB2-C2	2,6
HM 15/2007	SB3-C2	5,0
HM 15/2007	SB3-C2rep	5,2

Belo Horizonte, 22 de Fevereiro de 2007.

Cláudia Lima, Dr.
Chefe do Laboratório de Processamento Aquoso e
Caracterização de Sólidos Particulados

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

Para: Coordenação de Meio Ambiente
CVRD - Cia. Vale do Rio Doce - GEEIM/DIMB
ATT.: Flávio Café
Email: flavio.cafe@cvrd.com.br

Os resultados de análises de carbono orgânico total para as amostras enviadas estão apresentados na Tabela I. As análises foram realizadas no equipamento Shimadzu mod. TOC-VCSN. A análise de carbono total (TC) baseia-se na oxidação ou decomposição de todo carbono contido na amostra a CO₂ no tubo de combustão a 680°C. Na análise de carbono inorgânico (IC) a amostra é acidificação e o gás carbônico gerado pela decomposição dos carbonatos é purgado com O₂ e analisado, o carbono orgânico total (TOC) é obtido pela diferença entre o TC e IC.

Tabela I – Análise de carbono orgânico total (TOC) em amostras aquosas enviadas em Julho/2007

Amostra	TC (mg/L)	IC (mg/L)	TOC (mg/L)
SB1-C3	5.5	2.7	2.8
SB2-C3	5.1	2.6	2.5
SB3-C3	5.8	2.3	3.5
SS1-C3	12.2	8.9	3.3
SS2-C3	6.7	3.4	3.3
SS3-C3	14.0	9.0	5.0
SS3-C1	6.2	0.2	6.0

Belo Horizonte, 03 de Outubro de 2007.

Cláudia Lima, Dr.
Chefe do Laboratório de Processamento Aquoso e
Caracterização de Sólidos Particulados

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

Parâmetro	Campanha	Ponto de amostragem					
		SS1	SS2	SS3	SB1	SB2	SB3
pH	C1	7,81	7,60	8,46	7,45	7,50	7,28
	C2	7,4	7,55	7,5	7,33	7,2	7,04
	C3	7,86	7,65	8,30	7,20	7,16	7,15
	C2 (LAB)	7,66	7,73	7,70	7,56	7,43	7,44
	C3 (LAB)	7,87	7,65	8,30	7,20	7,16	7,15
Eh (mV)	C1	194	167	176	175	183	195
	C2	275	196	220	180	516	443
	C3	205	200	200	210	227	250
Eh (mv) corrigido	C1	391	364	373	372	380	392
	C2	472	393	417	377	713	640
	C3	402	397	397	407	424	447
Temperatura	C1	30,5	28,7	31,5	24	24,4	25,9
	C2	25	29,1	28,5	24,1	23,7	28,3
	C3	24,5	29,2	28,7	24,3	25,2	26,9
Condutividade Elétrica	C1	175	102	297	60	77	90
	C2	151	101	199	75	71	73
	C3	180	110	221	64	71	88
Alc total	C1	102	56	129	31	34	36
	C2	52	40	53	26	24	25
	C3	72	40	106	26	25	28
Alc. HCO3-	C1	102	56	129	31	34	36
	C2	52	40	53	26	24	25
	C3	72	40	97	26	25	28
Alc. HCO3--	C1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C3	ND	ND	8,9	ND	ND	ND
Cloreto	C1	9,3	6,8	13	4,4	5,4	4,4
	C2	9,4	4,4	9,4	2,5	2,5	0,02
	C3	8,8	3,9	15	2,4	0,02	0,02
N. Nítrico	C1	0,08	0,17	0,05	0,2	0,18	0,21
	C2	0,05	0,05	0,06	0,08	0,08	0,08
	C3	0,11	0,12	0,25	0,24	0,15	0,07
Mg total	C1	9,83	7,84	12,5	2,45	2,39	2,52
	C2	5,65	5,39	5,68	4,58	3,92	3,79
	C3	8,77	6,92	10,9	4,87	4,82	4,57
Mg diss.	C1	8,93	6,88	12,4	2,41	2,11	2,35
	C2	x	x	x	x	x	x
	C3	7,95	6,33	9,68	4,5	2,34	2,22
Ca total	C1	15,3	7,65	22	4,64	4,32	4,86
	C2	11,1	7,58	11,4	4,98	4,34	3,58
	C3	10,8	4,7	22,4	3,66	3,45	2,79
Ca diss.	C1	11,8	6,1	19,7	2,87	2,69	2,45
	C2	x	x	x	x	x	x
	C3	8,94	4,7	20,3	3,04	2,55	2,56
Cu total*	C1	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	C2	6,9	5,4	4,7	5,7	6	3,3
	C3	6,6	28,9	20	4,4	5,2	3,4
Cu diss.*	C1	5	5	5	5	5	5
	C2	5	2,5	3,2	2,1	1,4	2,9
	C3	6,2	25,8	18,7	3,7	3,6	2,8
Na total	C1	13,6	4,83	21,5	4,01	4,15	4,57
	C2	17,9	6,14	18,7	4,83	4,22	6,64
	C3	10,8	3,88	21,6	3,37	3,31	4,73
Na diss.	C1	12	4,16	21,15	3,09	3,76	4,24
	C2	x	x	x	x	x	x
	C3	10,7	3,73	21,6	3,2	2,91	4,33
	C1	3,03	1,17	3,6	1,61	1,95	1,58

K total	C2	3,76	1,47	4,2	1,45	1,33	2,01
	C3	1,71	0,63	3,86	0,5	0,5	0,88
K diss.	C1	2,42	1,09	3,57	1,45	1,8	1,46
	C2	x	x	x	x	x	x
	C3	1,56	0,62	3,83	< 0,50	< 0,50	0,88
Mn total	C1	0,13	0,03	0,15	0,02	0,03	0,03
	C2	0,14	0,06	0,18	0,04	0,05	0,06
	C3	0,08	0,03	0,06	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Mn diss.	C1	0,04	0,001	0,001	0,001	0,03	0,03
	C2	0,1	0,02	0,13	0,02	0,03	0,03
	C3	0,04	0,001	0,04	0,001	0,001	0,001
Fe total	C1	0,63	0,19	< 0,05	1,47	1,4	1,47
	C2	2,26	1,62	2,13	1,46	1,8	2,13
	C3	0,62	0,66	0,23	0,94	0,72	1,42
Fe diss.	C1	0,025	0,025	0,025	0,33	0,21	0,29
	C2	1,47	0,72	1,6	0,81	0,6	1,17
	C3	0,45	0,52	0,23	0,56	0,41	0,67
Al total	C1	x	x	x	x	x	x
	C2	0,37	0,28	0,15	0,65	0,33	0,35
	C3	0,19	0,14	0,15	0,14	0,13	0,13
Al diss.	C1	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	C2	0,17	0,025	0,025	0,025	0,025	0,14
	C3	0,14	0,14	0,15	0,15	0,13	0,1
Sól. Total	C1	151	103	166	52,7	62,7	61,4
	C2	146	83,7	157	82	75,4	61,4
	C3	142	44	183	38	38	74
Sól. Susp.	C1	13	5	5	10,7	12	15,7
	C2	10	5	13	42	11,7	14,7
	C3	12	11,5	11	11,5	12,5	18,5
Sulfato	C1	2,93	2,7	3,11	2,26	2,2	2,23
	C2	4,44	2,16	5,88	1,92	1,67	3,79
	C3	4,84	2,24	17,6	1,98	2,05	2,96
Sulfeto	C1	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
	C2	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
	C3	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Carbono org. diss.	C1	4,4	2,5	6,9	2,8	2,9	2,6
	C2	13,9	4,4	17	6	2,6	5,1
	C3	3,3	3,3	5	2,8	2,5	3,5

ANEXO IV

Relatório Final (RL0932/2007 – 1.0CD-Agudo-A;
TECAM Tecnologia Ambiental) e tabela-resumo
dos resultados de toxicidade aguda

Relatório Final RL0932/2007 – 1.0CD-Agudo
21 de Setembro de 2007

Título do Estudo
Teste de Toxicidade Aguda com
Ceriodaphnia dubia para o Projeto Cobre
Campanhas: Janeiro e Julho de 2007

Patrocinador
CIA VALE DO RIO DOCE
Rod. BR 262, Km 296 – Santa Luzia - MG
CEP: 33030-970 C.P.: 09

Laboratório executor
TECAM Tecnologia Ambiental Ltda.
R. Fábica, 59 - 05051-030.
São Paulo, SP.
Fone: (55) (11) 3873-2553 – Fax: (55) (11) 3862-8954

ÍNDICE

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO	3
INTRODUÇÃO	4
MATERIAIS E MÉTODOS	4
1. Dados das amostras.....	4
2. Dados do reagente.....	5
3. Dados dos organismos-teste.....	5
4. Condições de teste	5
5. Cultivo e controle de sensibilidade	6
6. Procedimentos.....	6
7. Análises estatísticas	7
RESULTADOS.....	7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
ANEXO 1.....	10

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO

O presente estudo com as amostras do **PROJETO COBRE**, requerido pela empresa **CIA. VALE DO RIO DOCE**, foi conduzido dentro dos preceitos estabelecidos pelo Sistema de Qualidade do Tecam. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos e contém informações estritamente confidenciais. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM – TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à Rua Fábria, 59-São Paulo – SP.

REGINA SAWAIA SÁFADI
Diretora Técnica (PhD)
CRB-SP 06126-01

___/___/___

THAIS PINHEIRO MUNIZ
Bióloga (MSc)
CRB-SP 33239/01-D

___/___/___

CIA. VALE DO RIO DOCE
Patrocinador

___/___/___

INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos tóxicos do cobre em amostras de água natural através da determinação da toxicidade aguda, com base nos efeitos sobre a sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* exposta a diferentes concentrações da substância (sulfato de cobre), durante um período de 48 horas.

Ao término dos testes deve ser estimada a concentração nominal das amostras que causam imobilidade à 50% dos organismos testados, nas condições teste - CE(I)50; 48h.

Este relatório apresenta os dados obtidos nas duas campanhas de coleta de amostras de água natural pelo Patrocinador, realizadas em Janeiro de 2007 (2ª Campanha) e Julho de 2007 (3ª Campanha).

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada para a realização do teste está descrita em “Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms” (USEPA, 2002).

1. Dados das amostras

	Identificação	Protocolo TECAM	Data de entrada	Data de coleta
2ª Campanha (Janeiro/2007)	SS1 – C2	0679/07	26/01/07	23/01/07
	SS2 – C2	0680/07	26/01/07	23/01/07
	SS3 – C2	0681/07	26/01/07	23/01/07
	SB1 – C2	0722/07	29/01/07	25/01/07
	SB2 – C2	0723/07	29/01/07	25/01/07
	SB3 – C2	0724/07	29/01/07	25/01/07
3ª Campanha (Julho/2007)	SS1 – C3	0932/2007 – 1.0	06/07/07	03/07/07
	SS2 – C3	0939/2007 – 1.0	06/07/07	03/07/07
	SS3 – C3	0940/2007 – 1.0	06/07/07	03/07/07
	SB1 – C3	0951/2007 – 1.0	07/07/07	04/07/07
	SB2 – C3	0952/2007 – 1.0	07/07/07	04/07/07
	SB3 – C3	0953/2007 – 1.0	07/07/07	04/07/07

2. Dados do reagente

Reagente: Sulfato de cobre pentaidratado P.A. ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Marca: F. Maia Indústria e Com. Ltda.

Lote: 32097.

Data de fabricação: 18/07/2006.

Data de validade: 18/07/2009.

3. Dados dos organismos-teste

Espécie: *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea).

Idade dos organismos: 6 a 24 horas.

4. Condições de teste

	Amostra	Data de início	Temperatura da água (média \pm desvio padrão)
2ª Campanha (Janeiro/2007)	SS1 – C2	14/03/2007	24,5 \pm 0,5°C
	SS2 – C2	14/03/2007	
	SS3 – C2	14/03/2007	
	SB1 – C2	13/03/2007	24,5 \pm 0,5°C
	SB2 – C2	13/03/2007	
	SB3 – C2	13/03/2007	
3ª Campanha (Julho/2007)	SS1 – C3	11/09/2007	25,0 \pm 0,5°C
	SS2 – C3	11/09/2007	
	SS3 – C3	11/09/2007	
	SB1 – C3	18/09/2007	25,0 \pm 0,0°C
	SB2 – C3	18/09/2007	
	SB3 – C3	13/09/2007	

Água de diluição: amostra de água de rio.

Controle: amostra de água de rio.

Controle adicional: água de represa (água padrão).

Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Renovação do meio: teste estático.

5. Cultivo e controle de sensibilidade

O cultivo dos animais é realizado com água natural de boa qualidade, coletada periodicamente em uma represa próxima à cidade de São Paulo. Mensalmente, os organismos-teste são submetidos a um teste de sensibilidade com a substância de referência, Cloreto de Sódio. A carta-controle de sensibilidade, utilizando dados acumulados de vários testes, indica uma CE(I)50; 48h média de 1,80gNaCl/L, com limites de controle (média \pm 2.desvios-padrão) de 0,96g a 2,64gNaCl/L. O último teste realizado, correspondente ao período de avaliação do presente estudo, apresentou uma concentração efetiva mediana de 1,38g NaCl/L, com intervalo de confiança de 1,03 a 1,85g NaCl/L. Este valor está dentro da faixa definida para avaliação do sistema-teste.

6. Procedimentos

Para cada amostra foi preparada inicialmente uma solução-estoque com o reagente Sulfato de cobre pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) na concentração 100,0 mg/L. A partir desta, foi preparada outra solução-estoque (10,00mg/L) e a partir da menor solução-estoque foram feitas as diluições utilizadas nos testes (vide Anexo 1). Todas as soluções foram preparadas com as amostras de água de rio encaminhadas pelo Patrocinador.

Jovens com 6 a 24 horas de idade foram selecionados da cultura isolada 24 horas antes do início do teste. Foram colocados cinco jovens em cada béquer com 25mL de solução-teste e um controle com água de rio, com quatro réplicas em cada concentração. Adicionalmente, foi preparado um controle com água de represa do Tecam, utilizada para o cultivo dos organismos (água padrão).

Após 48 horas de exposição, foram contados os animais imóveis em cada béquer. São considerados imóveis os animais incapazes de nadar durante um período de 15 segundos de observação, após agitação leve do frasco, e também os aprisionados na superfície da água, mesmo que móveis.

No início e no final dos testes foram realizadas análises de pH e teor de oxigênio dissolvido da água padrão, da água de diluição e de três concentrações preparadas. Além dessas análises, foi também determinada a dureza total das amostras de água.

7. Análises estatísticas

A concentração efetiva inicial mediana após 48 horas de exposição – CE(I) 50; 48h – e respectivo intervalo de 95% de confiança foram estimados através do método Spearman-Kärber modificado (Hamilton et al, 1977).

RESULTADOS

Os resultados dos testes de toxicidade aguda e os valores iniciais e finais das análises físicas e químicas das soluções estão apresentados no Anexo 1. Os valores obtidos estão dentro das faixas estabelecidas para a aceitação dos resultados (USEPA, 2002).

Após aplicação das análises estatísticas, foram estimados os valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h do sulfato de cobre para cada amostra das duas campanhas, conforme apresentado na Tabela 1 e Figura 1.

Analisando os valores da CE(I) 50; 48h, nota-se que o cobre apresentou toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia* em todas as amostras de água testadas.

Nas duas campanhas, as amostras SB1 e SB2 apresentaram maior toxicidade em comparação com as demais, enquanto que SS3 foi a que apresentou menor toxicidade aguda para *C. dubia* (Anexo 1).

Além disso, observa-se que todas as amostras da campanha de Janeiro/2007 apresentaram menor toxicidade que as correspondentes de Julho/2007.

Tabela 1 – Valores estimados da concentração nominal que causa a imobilidade de 50% dos organismos testados (CE(I)50; 48h) e intervalo de 95% de confiança, entre parênteses, expressos em miligrama de sulfato de cobre pentahidratado por litro e em miligrama de cobre por litro, e o valor de dureza total de cada amostra.

	Amostra	CE(I)50; 48h (I.C.*) mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O	CE(I)50; 48h (I.C.*) mg Cu/L	Dureza Total (mg CaCO ₃ /L)
2ª Campanha (Janeiro/2007)	SS1 – C2	0,67 (0,57 – 0,77)	0,172 (0,146 – 0,197)	41,5
	SS2 – C2	0,26 (0,23 – 0,30)	0,067 (0,059 – 0,077)	41,5
	SS3 – C2	0,85 (0,60 – 1,20)	0,218 (0,154 – 0,307)	42,0
	SB1 – C2	0,11 (0,08 – 0,15)	0,028 (0,019 – 0,038)	27,0
	SB2 – C2	0,11 (0,08 – 0,15)	0,028 (0,019 – 0,038)	23,5
	SB3 – C2	0,24 (0,22 – 0,28)	0,061 (0,056 – 0,072)	20,0
3ª Campanha (Julho/2007)	SS1 – C3	0,21 (0,15 - 0,30)	0,054 (0,038 - 0,077)	57,0
	SS2 – C3	0,11 (0,08 - 0,15)	0,028 (0,019 - 0,038)	35,0
	SS3 – C3	0,29 (0,25 - 0,34)	0,074 (0,064 - 0,087)	87,0
	SB1 – C3	0,08 (0,07 - 0,09)	0,019 (0,017 - 0,023)	21,5
	SB2 – C3	0,05 (0,05 - 0,06)	0,014 (0,013 - 0,014)	19,0
	SB3 – C3	0,11 (0,08 - 0,15)	0,028 (0,019 - 0,038)	17,0

*I.C.: intervalo de confiança 95%.

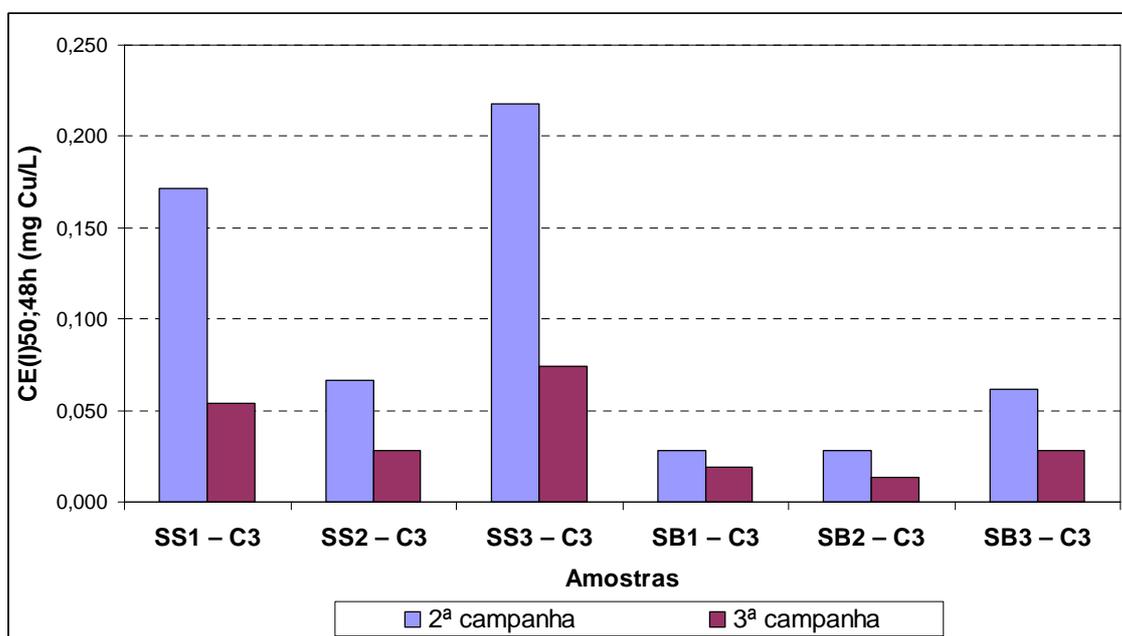


Figura 1 – Valor da concentração efetiva inicial mediana (CE50(I); 48h) de cada amostra de água, expressa em miligrama de cobre por litro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hamilton, M.A.; Russo, R.C.; Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, v. 11, p. 714-19, 1977.

USEPA **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms**. 4.ed. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, EPA-821-R-02-013. 2002.

ANEXO 1

Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia dubia* para as diferentes amostras (N.A.: não analisado).

Anexo 1.1. Amostra SS1 – C2 (Protocolo Tecam 0679/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS1-C2	0	7,80	7,75	7,38	6,47
0,075	0	7,76	7,79	7,49	6,38
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	0	7,75	7,78	7,61	6,61
0,600	35	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,69	7,84	7,62	6,65

Anexo 1.2. Amostra SS2 – C2 (Protocolo Tecam 0680/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS2-C2	0	7,71	7,69	7,38	6,25
0,075	0	7,76	7,65	7,42	6,00
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	70	7,75	7,59	7,46	5,85
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,76	7,58	7,39	6,04

Anexo 1.3. Amostra SS3 – C2 (Protocolo Tecam 0681/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS3-C2	0	7,61	7,89	7,20	6,71
0,075	0	7,74	7,95	7,60	6,80
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	0	7,70	7,96	7,33	6,88
0,600	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,75	7,96	7,42	6,81

Anexo 1.4. Amostra SB1 – C2 (Protocolo Tecam 0722/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB1-C2	0	7,58	7,60	7,08	6,50
0,075	0	7,60	7,68	7,03	6,61
0,150	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	100	7,62	7,67	7,12	6,37
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,61	7,65	7,11	6,15

Anexo 1.5. Amostra SB2 – C2 (Protocolo Tecam 0723/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB2-C2	0	7,45	7,67	7,47	6,20
0,075	0	7,54	7,65	6,90	6,74
0,150	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	100	7,60	7,65	6,73	6,73
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,48	7,65	7,04	6,40

Anexo 1.6. Amostra SB3 – C2 (Protocolo Tecam 0724/07) – 2ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB3-C2	0	7,41	7,68	7,14	6,52
0,075	0	7,47	7,66	7,12	6,43
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	80	7,46	7,65	7,20	6,10
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,47	7,66	7,43	6,29

Anexo 1.7. Água de represa (Controle TECAM) – 2ª Campanha

Controle TECAM (Data de início)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle 13/03/2007	0	7,41	7,54	6,37	6,59
Controle 14/03/2007	0	7,23	7,83	6,51	6,49

Anexo 1.8. Amostra SS1 – C3 (Protocolo Tecam 0932/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS1-C3	0	7,72	8,02	7,82	7,41
0,075	0	7,83	8,06	7,82	7,18
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	100	7,88	8,06	7,81	7,09
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,88	8,00	7,89	6,88

Anexo 1.9. Amostra SS2 – C3 (Protocolo Tecam 0939/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS2-C3	0	7,79	7,89	7,75	7,28
0,075	0	7,79	7,86	7,74	7,29
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	100	7,77	7,84	7,63	7,20
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,79	7,71	7,66	6,56

Anexo 1.10. Amostra SS3 – C3 (Protocolo Tecam 0940/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS3-C3	0	8,10	8,26	7,69	7,34
0,075	0	8,13	8,27	7,69	7,34
0,150	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	55	8,12	8,27	7,83	7,37
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	8,10	8,27	7,84	7,38

Anexo 1.11. Amostra SB1 – C3 (Protocolo Tecam 0951/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB1-C3	5	7,60	7,69	7,36	7,14
0,0187	0	7,60	7,71	7,54	7,03
0,0375	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,0750	50	7,58	7,70	7,49	7,02
0,1500	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,3000	100	7,56	7,63	7,56	6,77

Anexo 1.12. Amostra SB2 – C3 (Protocolo Tecam 0952/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB2-C3	0	7,61	7,57	7,52	7,10
0,0187	10	7,62	7,59	7,59	7,11
0,0375	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,0750	95	7,59	7,55	7,60	6,91
0,1500	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,3000	100	7,56	7,53	7,61	6,80

Anexo 1.13. Amostra SB3 – C3 (Protocolo Tecam 0953/2007 – 1.0) – 3ª Campanha

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB3-C3	15	7,41	7,74	8,78	6,89
0,075	0	7,36	7,78	8,24	6,84
0,150	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	100	7,45	7,70	8,21	6,85
0,600	100	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	100	7,46	7,74	8,17	7,01

Anexo 1.14. Água de represa (Controle TECAM) – 3ª Campanha

Controle TECAM (Data de início)	Mortalidade (%)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Controle 11/09/2007	0	7,59	7,93	7,61	7,32
Controle 13/09/2007	0	7,32	7,86	7,53	6,66
Controle 18/09/2007	0	7,49	7,69	7,60	6,61

Campanha/Ponto	SS1	SS2	SS3	SB1	SB2	SB3
2 ^a campanha	0,172	0,067	0,218	0,028	0,028	0,061
3 ^a campanha	0,054	0,028	0,074	0,019	0,014	0,028

Resultados de toxicidade aguda (concentração efetiva CE50, em mg/L Cu), na segunda e terceira campanha

ANEXO V

Relatório Final (RL0932/2007 – 2.0 CD – Crônico; TECAM Tecnologia Ambiental) e tabela-resumo dos resultados de toxicidade crônica (CI25 e CI50), após a conversão pelo programa ICp 2.0

Relatório Final RL0932/2007 – 2.0 CD – Crônico
09 de Outubro de 2007

Título do Estudo
Teste de Toxicidade crônica com
Ceriodaphnia dubia para o Projeto Cobre
Campanhas: Agosto de 2006, Janeiro e Julho de 2007

Patrocinador
CIA VALE DO RIO DOCE
Rod. BR 262, Km 296 – Santa Luzia - MG
CEP: 33030-970 C.P.: 09

Laboratório executor
TECAM Tecnologia Ambiental Ltda.
R. Fábica, 59 - 05051-030.
São Paulo, SP.
Fone: (55) (11) 3873-2553 – Fax: (55) (11) 3862-8954

ÍNDICE

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO.....	3
INTRODUÇÃO	4
MATERIAIS E MÉTODOS.....	4
1. Dados das amostras.....	4
2. Dados do reagente.....	5
3. Dados dos organismos-teste	5
4. Condições de teste	5
5. Cultivo e controle de sensibilidade.....	6
6. Procedimentos.....	6
7. Análises estatísticas	7
RESULTADOS	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
ANEXO 1.....	17
ANEXO 2.....	19
ANEXO 3.....	21

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO

O presente estudo com o produto **PROJETO COBRE**, requerido pela empresa **CIA. VALE DO RIO DOCE**, foi conduzido dentro dos preceitos estabelecidos pelo Sistema de Qualidade do Tecam. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos e contém informações estritamente confidenciais. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM – TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à Rua Fábria, 59-São Paulo – SP.

REGINA SAWAIA SÁFADI
Diretora Técnica (PhD)
CRB-SP 06126-01

___/___/___

THAIS PINHEIRO MUNIZ
Bióloga (MSc)
CRB-SP 33239/01-D

___/___/___

CIA. VALE DO RIO DOCE
Patrocinador

___/___/___

INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos tóxicos do cobre em amostras de água natural através da determinação da toxicidade crônica, com base nos efeitos sobre a sobrevivência e reprodução de *Ceriodaphnia dubia* exposta a diferentes concentrações da substância, durante um período de 7 dias.

Ao término dos testes devem ser estimadas a concentração de efeito não observado (CENO – concentração mais elevada que não causa efeitos deletérios aos organismos) e a concentração de efeito observado (CEO – concentração mais baixa que causa efeitos deletérios).

Este relatório apresenta os dados obtidos nas três campanhas de coleta de amostras de água natural pelo Patrocinador, realizadas em Agosto de 2006 (1ª Campanha), Janeiro de 2007 (2ª Campanha) e Julho de 2007 (3ª Campanha).

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada para a realização dos testes segue os procedimentos da ABNT (2005) e U.S. Environmental Protection Agency (USEPA, 2002).

1. Dados das amostras

As informações e identificação das amostras de água de rio são as seguintes:

	Identificação	Protocolo TECAM	Data de entrada	Data de coleta
1ª Campanha (Agosto/2006)	SS1 – C1	9028/06	22/08/06	21/08/06
	SS2 – C1	9029/06	22/08/06	21/08/06
	SS3 – C1	9030/06	22/08/06	21/08/06
	SB1 – C1	9056/06	23/08/06	22/08/06
	SB2 – C1	9057/06	23/08/06	22/08/06
	SB3 – C1	9058/06	23/08/06	22/08/06
2ª Campanha (Janeiro/2007)	SS1 – C2	0679/07	26/01/07	23/01/07
	SS2 – C2	0680/07	26/01/07	23/01/07
	SS3 – C2	0681/07	26/01/07	23/01/07
	SB1 – C2	0722/07	29/01/07	25/01/07
	SB2 – C2	0723/07	29/01/07	25/01/07
	SB3 – C2	0724/07	29/01/07	25/01/07

	Identificação	Protocolo TECAM	Data de entrada	Data de coleta
3ª Campanha (Julho/2007)	SS1 – C3	0932/2007 – 2.0	06/07/07	03/07/07
	SS2 – C3	0939/2007 – 2.0	06/07/07	03/07/07
	SS3 – C3	0940/2007 – 2.0	06/07/07	03/07/07
	SB1 – C3	0951/2007 – 2.0	07/07/07	04/07/07
	SB2 – C3	0952/2007 – 2.0	07/07/07	04/07/07
	SB3 – C3	0953/2007 – 2.0	07/07/07	04/07/07

2. Dados do reagente

Reagente: Sulfato de cobre pentaidratado P.A. (CuSO₄.5H₂O).

Marca: F. Maia Indústria e Com. Ltda.

Lote: 32097.

Data de fabricação: 18/07/2006.

Data de validade: 18/07/2009.

3. Dados dos organismos-teste

Espécie: *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea).

Idade dos organismos: 6 a 24 horas.

Alimentação: diária, com suspensão algácea e alimento composto.

4. Condições de teste

	Amostra	Data de início	Temperatura da água (média ± desvio padrão)
1ª Campanha (Agosto/2006)	SS1 – C1	25/08/2006	24,0 ± 1,0°C
	SS2 – C1		
	SS3 – C1		
	SB1 – C1		
	SB2 – C1		
	SB3 – C1		
2ª Campanha (Janeiro/2007)	SS1 – C2	17/03/2007	25,0 ± 0,5°C
	SS2 – C2	20/04/2007	24,5 ± 0,5°C
	SS3 – C2		
	SB1 – C2	23/04/2007	25,0 ± 0,5°C
	SB2 – C2		
	SB3 – C2		

	Amostra	Data de início	Temperatura da água (média ± desvio padrão)
3ª Campanha (Julho/2007)	SS1 – C3	26/09/2007	25,0 ± 0,0°C
	SS2 – C3	10/09/2007	25,0 ± 0,5°C
	SS3 – C3	26/09/2007	25,0 ± 0,0°C
	SB1 – C3	12/09/2007	25,0 ± 0,5°C
	SB2 – C3	26/09/2007	25,0 ± 0,0 °C
	SB3 – C3	12/09/2007	25,0 ± 0,5°C

Água de diluição: amostra de água de rio.

Controle: amostra de água de rio.

Controle adicional: água de represa (água padrão).

Fotoperíodo: 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Renovação do meio: três vezes durante o teste (teste semi-estático).

Alimentação: diária, com suspensão algácea e ração digerida.

Duração: 7 dias (prorrogável, se necessário, por mais 1 dia).

5. Cultivo e controle de sensibilidade

O cultivo dos animais é realizado com água natural de boa qualidade, coletada periodicamente em uma represa próxima à cidade de São Paulo. Mensalmente, os organismos-teste são submetidos a um teste de sensibilidade com a substância de referência, Cloreto de Sódio. A carta-controle de sensibilidade, utilizando dados acumulados de vários testes, indica uma CE(I)50; 48h média de 1,80gNaCl/L, com limites de controle (média ± 2.desvios-padrão) de 0,96g a 2,64gNaCl/L. O último teste realizado, correspondente ao período de avaliação da terceira campanha do projeto, apresentou uma concentração efetiva mediana de 1,38g NaCl/L, com intervalo de confiança de 1,03 a 1,85g NaCl/L. Este valor está dentro da faixa definida para avaliação do sistema-teste.

6. Procedimentos

Para cada amostra foi preparada inicialmente uma solução-estoque com o reagente Sulfato de cobre pentaidratado (CuSO₄.5H₂O) na concentração 100,0mg/L. A partir desta, foram preparadas duas outras soluções-estoque (10,00mg/L e 1,00mg/L) e

a partir destas foram feitas as diluições utilizadas nos testes (vide Anexo 1). Todas as soluções foram preparadas com as amostras de água de rio encaminhadas pelo Patrocinador.

Jovens com 6 a 24 horas de idade foram selecionados da cultura isolada 24 horas antes do início do teste. Em cada béquer foi colocado um jovem e 20mL de solução-teste ou água de rio (controle), com 10 réplicas para cada tratamento; os animais foram alimentados diariamente durante o período do teste com alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (anteriormente denominada *Selenastrum capricornutum*, (Korshikov), Hindak, 1990) e ração de peixe fermentada. Adicionalmente, foi preparado um controle com água de represa do Tecam, utilizada para o cultivo dos organismos (água padrão).

Os testes foram realizados em sistema semi-estático (troca de soluções a cada 48 horas aproximadamente); ao serem transferidos para as novas soluções-teste, os animais foram observados quanto à mortalidade e o número de jovens produzidos por animal. Ao final do teste, os animais que não produziram descendentes foram observados sob estereomicroscópio para determinação do sexo. Os machos, quando presentes, foram excluídos das análises estatísticas de reprodução. Para cada novo preparo de soluções foram realizadas análises de pH, condutividade e teor de oxigênio dissolvido, além da dureza total das amostras e da água de diluição no início do teste.

7. Análises estatísticas

Para o presente estudo, foram aplicadas as seguintes análises estatísticas:

- . Teste F e t (Zar, 1999) para comparação da reprodução do controle com água de represa (Tecam) com os demais controles com amostras de água de rio.
- . Prova Exata de Fisher (Zar, 1999): para comparação da mortalidade do controle com a das demais soluções-teste.
- . Teste de Normalidade do Chi-Quadrado (USEPA, 2002).
- . Teste de Bartlett para homogeneidade de variância (USEPA, 2002).
- . Teste de Williams (Gelber et alii, 1985; Williams, 1971, 1972): para comparação da reprodução média do controle com a das demais soluções-teste.

RESULTADOS

Os resultados dos testes de toxicidade das três campanhas e os valores iniciais e finais das análises físicas e químicas das soluções estão apresentados no Anexo 1. Os valores obtidos estão dentro das faixas estabelecidas para a aceitação dos resultados (ABNT, 2005).

Primeira campanha:

Primeiramente, foi avaliada a toxicidade crônica de cada amostra em relação ao controle geral do estudo (água de represa do TECAM). Foram aplicados os testes F e t aos dados de reprodução das amostras em relação ao controle geral e somente na amostra SB3 – C1 a reprodução média foi estatisticamente diferente do controle (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação das reproduções médias obtidas nos diferentes controles com a reprodução obtida no controle com água padrão.

Amostra	Reprodução (jovens/adulto)	Diferença estatisticamente significativa ?
Água de represa – TECAM	16	-
SS1 – C1	12	Não
SS2 – C1	13	Não
SS3 – C1	15	Não
SB1 – C1	13	Não
SB2 – C1	11	Não
SB3 – C1	10	Sim

Com isso, os efeitos observados na amostra SB3 – C1 tendem a ser maiores do que os efeitos nas demais amostras.

Para avaliação da toxicidade do Sulfato de cobre de cada amostra foi aplicado o teste do Chi-quadrado sobre os dados de reprodução, que indicou que seguem distribuição normal ao nível de 0,01. O teste de Bartlett indicou que esses dados apresentam variâncias homogêneas, ao mesmo nível. Com esses resultados, pode ser utilizado um teste estatístico paramétrico, como o teste de Williams. Estas análises foram aplicadas com base tanto no controle da própria amostra quanto com base no controle geral (água de represa Tecam).

Após aplicação das análises estatísticas, foram estimados os valores de CENO e CEO para cada amostra, com base no teor nominal de Cobre, conforme apresentado na Tabela 2 e Figura 1.

Tabela 2 – Valores estimados da concentração de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO), expressas em miligramas de Cobre por litro, e o valor de dureza total de cada amostra.

Amostra	Controle = Amostra		Controle = TECAM		Dureza Total (mg CaCO ₃ /L)
	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	
SS1 – C1	0,019	0,038	0,010	0,019	33,0
SS2 – C1	0,010	0,019	0,002	0,005	21,0
SS3 – C1	0,005	0,010	0,001	0,002	44,0
SB1 – C1	0,001	0,002	< 0,001	N.D.	12,0
SB2 – C1	0,010	0,019	< 0,001	N.D.	13,0
SB3 – C1	0,002	0,005	< 0,001	N.D.	12,0
Água de Represa TECAM	-	-	0,010	0,019	41,5

ND: Não determinado.

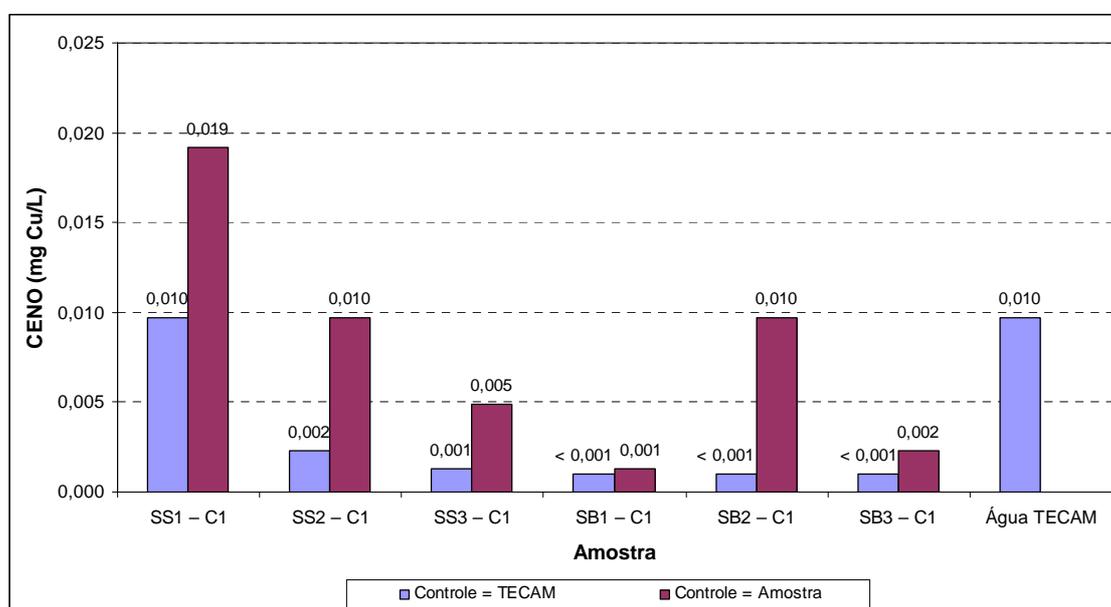


Figura 1 – Valor da concentração de efeito não observado (CENO) de cada amostra em relação ao tipo de controle (própria amostra ou água de represa – TECAM).

Quando se observa os valores de CENO, nota-se que a toxicidade do Cobre foi menor nas amostras de água de rio do que na água de represa do TECAM. Este resultado está, em parte, associado à maior reprodução obtida na água TECAM (16 jovens/adulto - vide tabela 1) do que nas amostras.

Segunda campanha:

Foi avaliada a toxicidade crônica de cada amostra de água de rio em relação ao controle geral do estudo (água padrão TECAM), com aplicação dos testes F e t aos dados de reprodução. Os resultados, apresentados na Tabela 3, mostram que nas amostras SS2 – C2 e SB3 – C1 a reprodução média foi estatisticamente diferente da água padrão.

Tabela 3 – Comparação das reproduções médias obtidas nos diferentes controles das amostras de água de rio com o controle com água padrão.

Data de início do teste	Amostra	Reprodução (jovens/adulto)	Diferença estatisticamente significativa?
09/03/2007	Água padrão	20	-
	SS1 – C2	15	Não
	SS2 – C2	11	Sim
	SS3 – C2	19	Não
13/04/2007	Água padrão	15	-
	SB1 – C2	7	Não
	SB2 – C2	13	Não
16/04/2007	Água padrão	18	-
	SB3 – C2	6	Sim

As amostras SS2 - C2 e SB3 - C2 apresentaram diferença significativa em relação à água padrão, ou seja, estas amostras apresentaram toxicidade inicial significativa. Com isso, os efeitos do sulfato de cobre observados nestas amostras podem ter sido subestimados em relação às demais amostras.

Para avaliação da toxicidade do Sulfato de cobre de cada amostra foi aplicado o teste do Chi-quadrado sobre os dados de reprodução e sobrevivência, que indicou que seguem distribuição normal ao nível de 0,01. O teste de Bartlett indicou

que esses dados apresentam variâncias homogêneas, ao mesmo nível. Com esses resultados, pode ser utilizado um teste estatístico paramétrico, como o teste de Williams. Estas análises foram aplicadas com base tanto no controle da própria amostra quanto com base no controle geral (água padrão Tecam).

Após aplicação das análises estatísticas, foram estimados os valores de CENO e CEO para cada amostra, com base no teor nominal de Cobre, conforme apresentado na Tabela 4 e Figura 2.

Tabela 4 – Valores estimados da concentração de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO), expressas em miligramas de Cobre por litro, e o valor de dureza total de cada amostra.

Amostra	Controle = Amostra		Controle = Água padrão		Dureza Total (mg CaCO ₃ /L)
	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	
SS1 – C2	0,005	0,010	< 0,001	ND	41,5
SS2 – C2	> 0,038	ND	< 0,001	ND	41,5
SS3 – C2	< 0,001	ND	< 0,001	ND	42,0
SB1 – C2	> 0,019	ND	< 0,001	ND	27,0
SB2 – C2	0,019	0,038	0,019	0,038	23,5
SB3 – C2	> 0,038	ND	< 0,001	ND	20,0
Água padrão	-	-	-	-	41,5

ND: Não determinado.

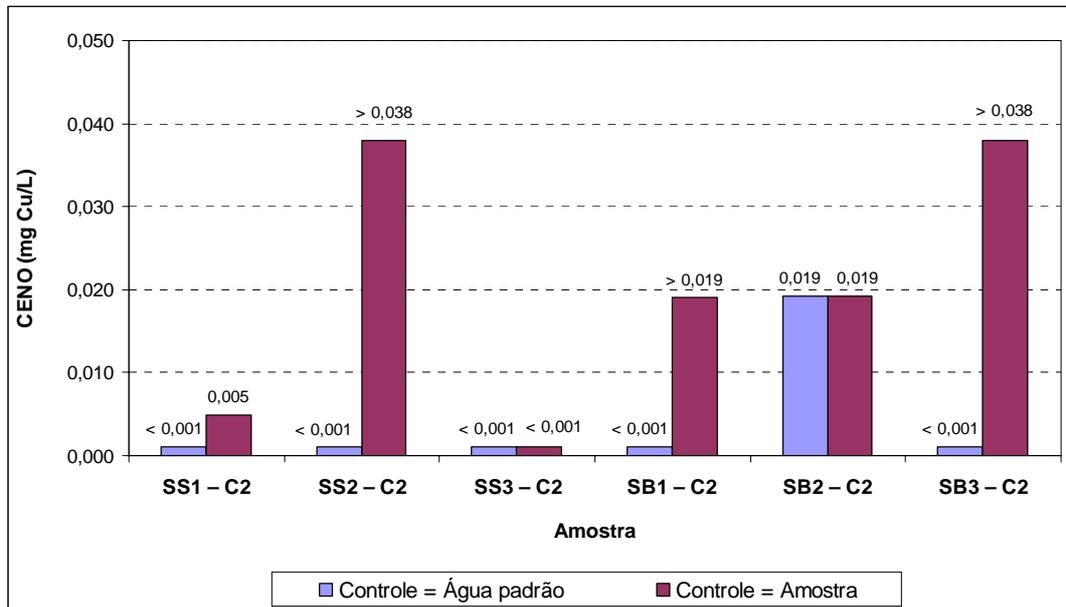


Figura 2 – Valor da concentração de efeito não observado (CENO) de cada amostra em relação ao tipo de controle (própria amostra ou água padrão TECAM).

Com base nos valores de CENO, os resultados indicam uma toxicidade do cobre maior quando a comparação é feita com base nos dados da água padrão, devido à maior reprodução obtida nesta água (em média, aproximadamente 18 jovens/adulto - vide tabela 4) do que nas amostras.

Por outro lado, utilizando os dados das amostras de água de rio, observa-se que a toxicidade do cobre foi menor nas amostras SS2 - C2 e SB3 - C2, que, como mencionado, apresentaram toxicidade crônica para *C. dubia*. As amostras SB1 - C2 e SB2 - C2 foram as menos tóxicas, seguidas de SS1 - C2 e SS3 - C2.

Terceira campanha:

Foi avaliada a toxicidade crônica de cada amostra de água de rio em relação ao controle geral do estudo (água padrão TECAM), com aplicação dos testes F e t aos dados de reprodução. Os resultados, apresentados na Tabela 5, mostram que apenas na amostra SS3 - C3 a reprodução média foi estatisticamente igual da água padrão.

Tabela 5 – Comparação das reproduções médias obtidas nos diferentes controles das amostras de água de rio com o controle com água padrão.

Data de início do teste	Amostra	Reprodução (jovens/adulto)	Diferença estatisticamente significativa?
10/09/2007	Água padrão	19	-
	SS2 – C3	5	Sim
12/09/2007	Água padrão	16	-
	SB1 – C3	6	Sim
	SB3 – C3	4	Sim
26/09/2007	Água padrão	19	-
	SS1 – C3	12	Sim
	SS3 – C3	19	Não
	SB2 – C3	7	Sim

As amostras SS1 – C3; SS2 – C3; SB1 – C3; SB2 – C3 e SB3 – C3 apresentaram diferença significativa em relação à água padrão, ou seja, estas amostras apresentaram toxicidade inicial significativa.

Para avaliação da toxicidade do Sulfato de cobre de cada amostra foi aplicado o teste do Chi-quadrado sobre os dados de reprodução e sobrevivência, que indicou que seguem distribuição normal ao nível de 0,01. O teste de Bartlett indicou que esses dados apresentam variâncias homogêneas, ao mesmo nível. Com esses resultados, pode ser utilizado um teste estatístico paramétrico, como o teste de Williams. Estas análises foram aplicadas com base tanto no controle da própria amostra quanto com base no controle geral (água padrão Tecam).

Após aplicação das análises estatísticas, foram estimados os valores de CENO e CEO para cada amostra, com base no teor nominal de Cobre, conforme apresentado na Tabela 6 e Figura 3.

Tabela 6 – Valores estimados da concentração de efeito não observado (CENO) e concentração de efeito observado (CEO), expressas em miligramas de Cobre por litro, e o valor de dureza total de cada amostra.

Amostra	Controle = Amostra		Controle = Água padrão		Dureza Total (mg CaCO ₃ /L)
	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	CENO (mg Cu/L)	CEO (mg Cu/L)	
SS1 – C3	0,019	0,038	0,019	0,038	57,0
SS2 – C3	0,019	0,038	<0,001	<0,001	35,0
SS3 – C3	0,019	0,038	0,019	0,038	87,0
SB1 – C3	0,001	0,002	<0,001	<0,001	21,5
SB2 – C3	0,00016	0,00032	< 0,00008	< 0,00008	19,0
SB3 – C3	0,001	0,002	<0,001	<0,001	17,0

ND: Não determinado.

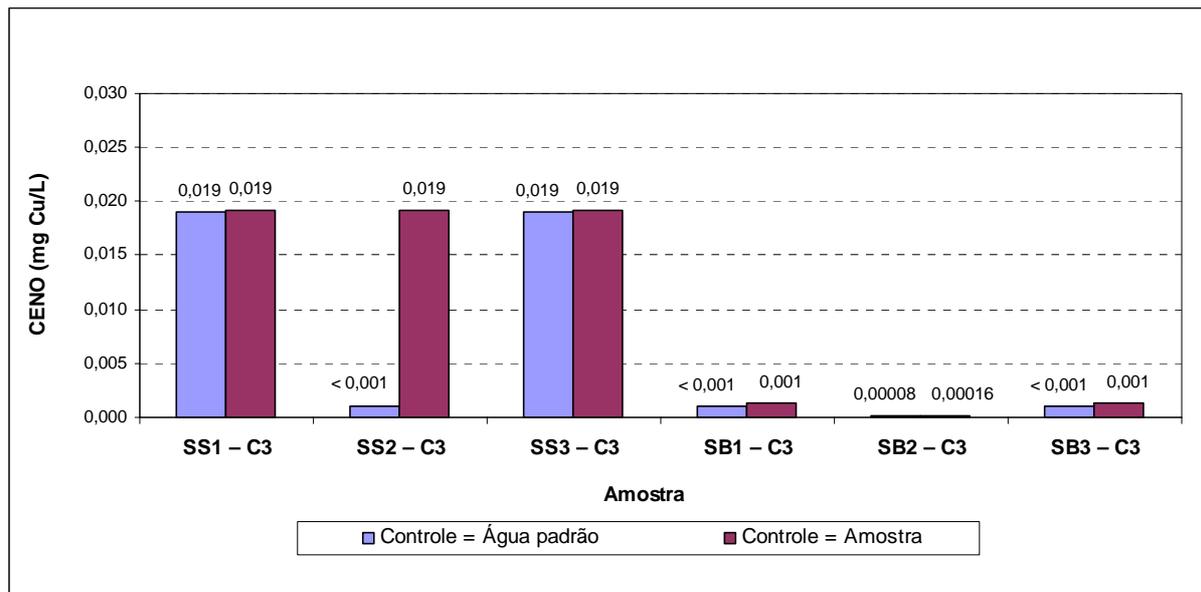


Figura 3 – Valor da concentração de efeito não observado (CENO) de cada amostra em relação ao tipo de controle (própria amostra ou água padrão TECAM).

Com base nos valores de CENO, os resultados indicam uma toxicidade do cobre maior quando a comparação é feita com base nos dados da água padrão, devido à maior reprodução obtida nesta água (em média, aproximadamente 18 jovens/adulto - vide tabela 5) do que nas amostras. Este resultado, entretanto, não se observa das

amostras SS1 – C3 e SS3 – C3 cujo valor de CENO foi exatamente igual quando comparado com ambas as águas (Água padrão e água de rio).

Quando utilizamos os dados das amostras de água de rio para comparação, observa-se que a toxicidade do cobre foi menor nas amostras SS1 – C3; SS2 – C3 e SS3 – C3. As amostras SB1 – C3 e SB3 – C3 foram as mais tóxicas seguidas da SB2 - C3.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). **Norma NBR 13373**. Rio de Janeiro, ABNT, 13 p., 2004.
- Gelber, R.D.; Lavin, P.T.; Mehta, C.R.; Schoenfeld, D.A. Statistical analysis. In: Rand, G.M. e Petrocelli, S.R. (eds) **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Washington, Hemisphere Publ. Co., p. 110-23, 1985.
- USEPA **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms**. 4.ed. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, EPA-821-R-02-013. 2002.
- Williams, D.A. A test for differences between treatment means when several doses levels are compared with a zero dose control. **Biometrics**, v. 27, p. 103-17, 1971.
- Williams, D.A. The comparison of several dose levels with a zero dose control. **Biometrics**, v. 28, p.519-31, 1972.
- Zar, J.H. **Biostatistical Analysis**. 4.ed. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice-Hall, Inc. 1999.

ANEXO 1

1ª Campanha

Anexo 1.1. Amostra SS1 – C1 (Protocolo Tecam 9028/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (μS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	12	8,12	8,18	N.A.	191,9	7,85	7,94
0,005	0	16	8,20	8,20	215,0	199,7	7,90	7,87
0,009	0	16	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	14	8,18	8,17	195,0	195,2	7,92	7,94
0,038	0	15	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	20	7	8,18	8,06	191,1	200,0	7,89	7,61

Anexo 1.2. Amostra SS2 – C1 (Protocolo Tecam 9029/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (μS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	13	7,98	7,85	110,8	117,5	8,02	7,69
0,005	0	17	7,97	7,80	111,4	117,5	8,13	7,38
0,009	10	13	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	12	7,99	8,05	111,8	117,2	7,96	7,96
0,038	0	12	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	9	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	50	6	7,94	7,69	111,8	118,2	8,03	6,88

Anexo 1.3. Amostra SS3 – C1 (Protocolo Tecam 9030/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (μS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	15	8,51	8,31	276,0	293,0	8,34	7,58
0,005	0	12	8,50	8,33	280,0	296,0	8,32	7,44
0,009	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	12	8,50	8,30	280,0	293,0	8,31	7,48
0,038	0	9	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	0	6	8,50	8,25	280,0	298,0	8,38	7,44

Anexo 1.4. Amostra SB1 – C1 (Protocolo Tecam 9056/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (µS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	13	7,85	7,78	66,3	66,8	7,90	7,44
0,005	11	12	7,71	7,82	66,3	68,0	8,16	7,92
0,009	0	9	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	9	7,79	7,74	65,0	68,4	8,11	7,79
0,038	0	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	70	1	7,77	7,54	64,3	68,2	8,15	7,14

Anexo 1.5. Amostra SB2 – C1 (Protocolo Tecam 9057/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (µS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	11	7,70	7,67	63,3	64,3	8,15	7,75
0,005	0	9	7,75	7,68	62,7	64,9	8,02	7,81
0,009	0	8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	12	7,73	7,62	63,6	63,6	8,00	7,74
0,038	0	12	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	10	5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	10	5	7,72	7,60	63,6	65,0	7,99	7,61

Anexo 1.6. Amostra SB3 – C1 (Protocolo Tecam 9058/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (µS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	10	7,75	7,80	64,6	69,6	8,01	7,36
0,005	0	7	7,79	7,78	65,2	70,1	8,12	7,47
0,009	0	7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	20	5	7,79	7,80	65,0	66,8	8,11	7,74
0,038	0	5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	60	3	7,79	7,74	65,0	67,9	8,05	7,52

Anexo 1.7. Água de Represa – TECAM (Protocolo Tecam 9081/06)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Condutividade (µS/cm)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0	16	7,77	7,90	166,8	173,4	7,86	7,80
0,005	0	14	7,79	7,75	166,8	175,8	7,93	7,56
0,009	10	14	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	15	7,82	7,69	168,9	175,8	7,99	7,52
0,038	0	13	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	30	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	40	5	7,84	7,64	168,9	177,0	8,00	7,36

ANEXO 2

2ª campanha

Anexo 2.1. Amostra SS1 – C2 (Protocolo Tecam 0679/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS1 – C2	0	15	7,51	7,94	7,04	6,54
0,005	30	12	7,85	8,02	6,72	7,35
0,009	30	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	7	7,83	8,04	6,93	7,31
0,075	30	8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	22	8	7,80	7,99	7,01	7,23

Anexo 2.2. Amostra SS2 – C2 (Protocolo Tecam 0680/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS2 – C2	0	11	7,64	7,13	7,09	7,77
0,005	0	7	7,78	8,02	7,23	7,17
0,009	0	6	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	6	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	6	7,76	8,01	7,14	7,00
0,075	10	5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	10	9	7,75	7,95	7,16	6,89

Anexo 2.3. Amostra SS3 – C2 (Protocolo Tecam 0681/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS3 – C2	0	19	7,74	7,77	6,96	7,30
0,005	0	11	7,85	8,00	6,84	7,18
0,009	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	9	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	10	10	7,86	8,06	6,83	7,35
0,075	11	9	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	0	6	7,84	8,02	6,78	7,30

Anexo 2.4. Amostra SB1 – C2 (Protocolo Tecam 0722/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB1 – C2	20	7	7,83	7,61	7,58	6,31
0,005	11	6	7,82	8,06	7,58	7,93
0,009	10	3	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	7	7,82	8,02	7,58	7,89
0,075	0	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	89	2	7,84	8,14	7,60	7,89

Anexo 2.5. Amostra SB2 – C2 (Protocolo Tecam 0723/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB2 – C2	20	13	7,85	7,68	7,57	6,30
0,005	0	9	7,86	7,49	7,56	7,14
0,009	0	13	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	12	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	10	7,84	7,61	7,58	7,15
0,075	0	11	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	43	4	7,84	7,66	7,58	7,37

Anexo 2.6. Amostra SB3 – C2 (Protocolo Tecam 0724/07)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB3 – C2	30	6	7,65	7,86	7,95	7,54
0,005	0	10	7,69	7,70	7,89	7,26
0,009	10	8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	0	7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	6	7,67	7,76	7,89	7,33
0,075	10	6	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	20	3	7,67	7,71	7,89	7,33

Anexo 2.7. Água padrão (Água de represa TECAM)

Água padrão (Data de início do teste)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle (09/03/2007)	0	20	7,50	7,71	6,11	7,09
Controle (13/04/2007)	0	15	7,36	7,67	7,53	7,22
Controle (16/04/2007)	0	18	7,60	7,82	7,30	7,54

ANEXO 3

3ª campanha

Anexo 3.1. Amostra SS1 – C3 (Protocolo Tecam 0932/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS1 – C3	0	12	8,07	8,03	7,86	7,27
0,038	0	17	8,03	8,06	7,76	7,21
0,075	0	15	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	7	4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,300	10	0	8,02	8,02	7,93	6,79
0,600	10	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
1,200	10	0	8,02	8,04	7,71	7,12

Anexo 3.2. Amostra SS2 – C3 (Protocolo Tecam 0939/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS2 – C3	0	5	7,61	7,98	8,30	7,28
0,005	10	3	7,63	7,88	8,08	6,95
0,009	20	3	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	10	5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	0	5	7,63	7,94	8,16	7,02
0,075	0	7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	70	1	7,64	7,96	8,20	7,25

Anexo 3.3. Amostra SS3 – C3 (Protocolo Tecam 0940/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SS3 – C3	0	19	8,10	8,20	7,84	7,24
0,019	0	19	8,20	8,30	7,78	7,29
0,038	0	20	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,075	0	16	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	10	6	8,16	8,30	7,89	7,23
0,300	100	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,600	100	0	8,15	8,50	7,87	6,91

Anexo 3.4. Amostra SB1 – C3 (Protocolo Tecam 0951/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB1 – C3	0	6	7,65	7,68	7,58	7,35
0,005	10	4	7,67	7,66	7,67	7,39
0,009	0	2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	10	2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	20	1	7,64	7,67	7,72	7,40
0,075	100	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	100	0	7,63	N.A.	7,70	7,18

Anexo 3.5. Amostra SB2 – C3 (Protocolo Tecam 0952/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB2 – C3	0	7	7,67	7,68	7,64	7,41
0,0003125	0	5	7,69	7,68	7,59	7,37
0,000625	0	4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,00125	10	1	7,59	7,66	7,86	7,18
0,0025	40	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,005	100	0	7,54	7,80	7,97	7,43

Anexo 3.6. Amostra SB3 – C3 (Protocolo Tecam 0953/2007 – 2.0)

Concentração (mg/L CuSO ₄ .5H ₂ O)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle SB3 – C3	20	4	7,73	7,52	7,51	6,96
0,005	40	1	7,72	7,55	7,56	7,04
0,009	30	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,019	30	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,038	100	0	7,75	7,53	7,52	6,95
0,075	100	0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
0,150	100	0	7,70	N.A.	7,58	7,19

Anexo 3.7. Água de Represa – TECAM

Água padrão (Data de início do teste)	Mortalidade (%)	Reprodução (jovens/adulto)	pH		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Controle (10/09/2007)	0	19	7,54	8,02	7,61	7,28
Controle (12/09/2007)	0	16	7,32	7,90	6,89	7,42
Controle (26/09/2007)	0	19	7,53	7,85	6,55	7,23

Campanha/Ponto	SS1	SS2	SS3	SB1	SB2	SB3
1ª campanha	0,1381	0,1282	0,1222	0,1005	0,0701	0,0919
2a campanha	0,0362	–	0,063	0,1188	0,0924	0,1236
3a campanha	0,123	0,1249	0,1157	0,0077	0,0007	0,0034

Resultados da concentração de inibição CI50, em mg/L Cu, para as campanhas 1, 2 e 3, obtidos a partir do programa ICp 2.0

ANEXO VI

Critérios de proteção de comunidades aquáticas
para toxicidade aguda

Critérios de proteção de comunidades aquáticas para toxicidade aguda

(CMC=FAV/2), ug/L	CE50/2 - BLM (ug/L)	CE50 - MEDIDO/2 (mg/L)
55,1897	87,96993679	86
19,3466	30,71347321	33,5
80,5446	126,5019554	109
19,0066	30,6033857	14
6,6406	10,82807326	14
10,9045	17,88956441	30,5

2ª campanha

(CMC=FAV/2), ug/L	CE50/2 - BLM (ug/L)	CE50 - MEDIDO/2 (mg/L)
21,5548	32,88485707	27
16,3059	25,53249124	14
63,6413	88,9825704	37
7,1457	11,60844024	9,5
6,0941	9,869068267	7
8,6613	13,99338202	14

3ª campanha

ANEXO VII

Critérios de proteção de comunidades aquáticas
para toxicidade crônica

Critérios de proteção de comunidades aquáticas para toxicidade crônica

	(CCC=FAV/ACR), ug/L	CE50/FACR - BLM (ug/L)	CE50 - MEDIDO/FACR (ug/L)
SS1	18,604	x	x
SS2	7,1065	x	x
SS3	69,5848	x	x
SB1	6,2678	x	x
SB2	7,0355	x	x
SB3	4,7008	x	x

1ª campanha

	(CCC=FAV/ACR), ug/L	CE50/FACR - BLM (ug/L)	CE50 - MEDIDO/FACR (ug/L)
SS1	34,2793	54,63971229	53,41614907
SS2	12,0165	19,07669144	20,80745342
SS3	50,0277	78,57264308	67,70186335
SB1	11,8053	19,0083141	8,695652174
SB2	4,1246	6,725511343	8,695652174
SB3	6,773	11,11153069	18,94409938

2ª campanha

	(CCC=FAV/ACR), ug/L	CE50/FACR - BLM (ug/L)	CE50 - MEDIDO/FACR (ug/L)
SS1	13,3881	20,42537706	16,77018634
SS2	10,1279	15,85869021	8,695652174
SS3	39,5288	55,26867727	22,98136646
SB1	4,4384	7,21021133	5,900621118
SB2	3,7851	6,129856067	4,347826087
SB3	5,3797	8,691541627	8,695652174

3ª campanha