



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EFLUENTE DE
DIURANATO DE AMÔNIO PROVENIENTE DA
UNIDADE DE RECONVERSÃO DO URÂNIO
DO IPEN/CNEN-SP**

SÍLVIO CÉSAR DE OSTI

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais**

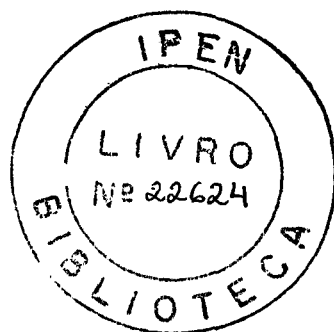
**Orientadora:
Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel**

**São Paulo
2001**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EFLUENTE DE PROCESSO DE DIURANATO
DE AMÔNIO PROVENIENTE DA UNIDADE DE RECONVERSÃO DO URÂNIO DO
IPEN/CNEN-SP**

SÍLVIO CÉSAR DE OSTI



Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do grau de Mestre
em Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora:
Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel

São Paulo
2001

**À Alessandra, esposa e
amiga, por todo
carinho e dedicação.**

AGRADECIMENTOS

À Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel pela orientação, confiança, amizade e incentivo que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

À Dra. Maria Aparecida Faustino Pires pela confiança e preciosas sugestões durante todo o trabalho.

À Dra. Elita C. Frajndlich pelas imprescindíveis contribuições.

Ao amigo Prof. Dr. Airton Eiras pelo exemplo e incentivo no ingresso à carreira acadêmica.

Ao amigo Luiz Eduardo Botelho Pires pela prontidão nos momentos de necessidade e ajuda durante todo o trabalho.

Aos amigos Ricardo dos Santos Coelho, Sílvia Egler, Angélica Megda da Silva, Patricia M. Jaconetti, Wilson M. Grava, Classira Tibolla, Carla Capolleti e Marcos J. de Lima Lemes do Centro de Química e Meio Ambiente pela ajuda durante todo o trabalho.

Aos meus pais Luiz de Osti (*in memoriam*) e Lourdes e irmãos pela presença em toda essa caminhada.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN – SP)

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de Mestrado que tornou possível a realização deste trabalho.

Financiamento: FAPESP

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EFLUENTE DE PROCESSO DO DIURANATO DE AMÔNIO PROVENIENTE DA UNIDADE DE RECONVERSÃO DE URÂNIO DO IPEN/CNEN - SP

Sílvio César de Osti

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar a toxicidade do efluente de processo de diuranato de amônio produzido na Unidade de Reconversão de Urânio do IPEN, resultante do processo de hidrólise do hexafluoreto de urânio (UF_6), matéria prima para produção do combustível utilizado pelo reator IEA-R1 do IPEN. Foram realizados cinco testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* que estimaram valores de CE(I)50;48h entre 0,39% e 0,57% de concentração de efluente e cinco testes com *Danio rerio* que estimaram valores de CE(I)50;48h entre 0,06% a 0,07% de concentração do efluente. Realizaram-se três testes de toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*, obtendo-se valores de CENO para concentrações menores que 0,12% do efluente. Os testes de toxicidade com *Ceriodaphnia dubia* revelaram toxicidade aguda na menor concentração testada, ou seja, 0,006% de efluente. Com objetivo de estabelecer a toxicidade do íon fluoreto, presente no efluente, para *Daphnia similis*, foram realizados cinco testes de toxicidade aguda, encontrando-se valores CE(I)50;48h entre 263,90 mg L⁻¹ e 292,82 mg L⁻¹. Os resultados das análises químicas e dos testes de toxicidade realizados com *Daphnia similis* revelam, durante o período de armazenamento, uma toxicidade persistente, provavelmente devido à estabilidade química apresentada. Testes de toxicidade aguda com *Danio rerio* e crônica com *Selenastrum capricornutum*, com o efluente após tratamento por troca iônica, realizado para retirar o urânio presente para reutilização, revelaram não haver diminuição significativa da toxicidade. A toxicidade do efluente deve-se provavelmente às altas concentrações de amônia.

**TOXICITY EVALUATION OF THE EFFLUENT OF THE AMMONIUM DIURANATE
PROCESS PROCEEDING FROM THE URANIUM RECONVERSION CICLE
(IPEN/CNEN– SP)**

Sílvio César de Osti

ABSTRACT

This project was developed with the objective to evaluate the acute and chronic toxicity of the ammonium diuranate proceeding from the process used to obtain uranium hexafluoride (UF_6), substance which is necessary to produce fuel used by the IEA-R1- IPEN reactor. Five acute toxicity tests were done with *Daphnia similis* in which concentration values of EC(I)50;48h, between 0,39% and 0,57% of the effluent were determined, and other five with *Danio rerio* in which concentration values of EC(I)50;48h, between 0,06% and 0,07% of the effluent were determined. Three chronic toxicity tests with *Selenastrum capricornutum* were done, having found NOEC values for concentrations below 0,12% of the effluents. To determine the ion fluoride toxicity in the *Daphnia similis*, five acute toxicity tests were done in which values of EC(I)50;48h, between 263,90 mg L⁻¹ and 292,82 mg L⁻¹ were found. The acute toxicity tests done with *D. similis* demonstrated that the effluent toxicity persisted during its storage period. The acute toxicity tests with *D. rerio* and the chronic ones with *S. capricornutum* using the effluents after the ionic-replace treatment, which objective is to recover uranium for reuse, demonstrated the effluent toxicity persistency.

ÍNDICE

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice.....	v
Lista de figuras.....	vii
Lista de tabelas.....	ix
Lista de abreviaturas.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Controle de agentes tóxicos em efluentes industriais.....	2
1.1.1. Testes de toxicidade.....	3
1.1.1.1. Efeito agudo.....	5
1.1.1.2. Efeito crônico.....	6
1.2. Ciclo do Combustível Nuclear a Base de Urânio.....	7
1.2.1. Tratamento e armazenagem do efluente.....	10
1.2.2. Toxicidade.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1. Coleta e preservação da amostra.....	17
3.2. Caracterização física e química do efluente.....	17
3.3. Avaliação da toxicidade do efluente de diuranato de amônio.....	21
3.3.1. Toxicidade aguda.....	21
3.3.1.1. Avaliação da toxicidade aguda para <i>Daphnia similis</i>	21
3.3.1.1.1. Avaliação da toxicidade aguda do íon fluoreto para <i>D. similis</i>	23
3.3.1.2. Avaliação da toxicidade aguda para <i>Danio rerio</i>	23
3.3.2. Avaliação da toxicidade crônica.....	25
3.3.2.1. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Selenastrum capricornutum</i>	25
3.3.2.2. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	26
3.4. Cultivo e manutenção dos organismos-teste.....	27
3.4.1. Cultivo de <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia dubia</i>	27
3.4.1.1. Água de cultivo.....	27
3.4.1.1.1. Testes e viabilidade de água de cultivo para <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia dubia</i>	27
3.4.1.2. Alimento.....	28
3.4.1.3. Condições de cultivo.....	29
3.4.1.3.1. Condições de cultivo de <i>Daphnia similis</i>	29
3.4.1.3.2. Condições de cultivo de <i>Ceriodaphnia dubia</i>	30
3.4.1.4. Determinação da faixa de sensibilidade.....	31

3.4.1.4.1.Determinação da faixa de sensibilidade para <i>Daphnia similis</i>	31
3.4.1.4.2.Determinação da faixa de sensibilidade para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	32
3.4.2.Condições de manutenção de <i>Danio rerio</i>	32
3.4.2.1. Alimentação.....	34
3.4.2.2. Viabilidade da água de manutenção.....	34
3.4.2.3.Determinação da faixa de sensibilidade.....	35
3.4.3.Cultivo de <i>Selenastrum capricornutum</i>	35
3.5. Análise estatística.....	36
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1.Características físicas e químicas do efluente.....	37
4.2.Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio para <i>Daphnia similis</i> ..	41
4.2.1.toxicidade aguda do íon fluoreto para <i>Daphnia similis</i>	45
4.3.Toxicidade aguda para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	46
4.4.Toxicidade aguda para <i>Danio rerio</i>	47
4.5.Toxicidade crônica do efluente de diuranato de amônio para <i>Selenastrum capricornutum</i>	51
4.6.Sensibilidade de <i>Daphnia similis</i>	53
4.7.Sensibilidade de <i>Ceridaphnia dubia</i>	56
4.8.Sensibilidade de <i>Danio rerio</i>	57
5.CONCLUSÕES.....	59
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
7. APÊNDICES.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Relações entre as etapas de um ciclo do Combustível Nuclear típico (LAINETTI, 1991).....	7
Figura 2: Unidade de Reconversão do Urânio (IPEN/CNEN-SP).....	8
Figura 3: Diagrama de Blocos da obtenção de U ₃ O ₈ a partir do diuranato de amônio (DUA) enriquecido (CÓTRIM, 1994; FRANÇA, Jr, 1972, modificado.).....	9
Figura 4: Fontes, tratamento e destinos de despejos de baixa radioatividade de usinas nucleares (modificado de BRAILE, 1979).....	10
Figura 5: Tratamento do efluente de diuranato de amônio do Ciclo de Reconversão de Urânio (IPEN/CNEN).....	12
Figura 6: Fêmea embrionada de <i>Daphnia similis</i>	21
Figura 7: Etapas do teste de toxicidade aguda para <i>D. similis</i> : Soluções testes com organismos inoculados(esquerda)e Testes em incubadora (direita).....	22
Figura 8: Teste de toxicidade crônica para <i>Selenastrum capricornutum</i>	26
Figura 9: Cultivo de <i>Daphnia similis</i> no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente (IPEN/CNEN-SP).....	29
Figura 10: Fêmema embrionada de <i>Ceriodaphnia dubia</i>	30
Figura 11: Sistema de manutenção e testes com peixes do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente (IPEN/CNEN-SP).....	33
Figura 12: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP)para <i>Daphnia smilisi</i>	42
Figura 13: Toxicidade do íon fluoreto para <i>Daphnia similis</i>	46
Figura 14: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP) para <i>Danio rerio</i>	48
Figura 15: Crescimento de <i>S. Capricornutum</i> em testes de toxicidade crônica com efluente de processo de Diuranato de Amônio.....	51

Figura 16: Sensibilidade de <i>Daphnia similis</i> ao Dicromato de Potássio.....	55
Figura 17: Sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i> ao cloreto de sódio.....	56
Figura 18: Sensibilidade de <i>Danio rerio</i> ao dicromato de potássio.....	57

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1: Teores máximos das espécies químicas presentes no efluente DUA, conforme legislação.....	15
Tabela 2: Características físicas e químicas do efluente de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP).....	38
Tabela 3: Concentrações de amônio, fluoreto e urânio nos testes de toxicidade realizados.	39
Tabela 4: Porcentagem de amônia não-ionizada em soluções aquosas em função da temperatura e do pH (modificado de SETAC, 1998).....	40
Tabela 5: Valores de CE(I)50;48h, em % do efluente (Diuranato de Amônio), para <i>Daphnia similis</i>	42
Tabela 6: Toxicidade das espécies químicas presentes no efluente de processo do Diuranato de Amônio para o gênero <i>Daphnia sp.</i>	44
Tabela 7: Valores de CE(I)50;48h, em mg L ⁻¹ de fluoreto para <i>Daphnia similis</i>	45
Tabela 8: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio para <i>Danio rerio</i> ...	47
Tabela 9: Toxicidade da amônia para peixes de água doce.....	48
Tabela 10: Dados biométricos dos lotes de <i>Danio rerio</i> utilizados nos testes de toxicidade do efluente de processo do DUA.....	51
Tabela 11: Crescimento algáceo médio em testes de toxicidade crônica do efluente de processo de Diuranato de Amônio para <i>Selenastrum capricornutum</i>	51
Tabela 12: Resultado do teste de Turkey de comparações múltiplas para os dados de crescimento de <i>Selenastrum capricornutum</i> observados sob diferentes concentrações do efluente DUA.....	52
Tabela 13: Valores de CE(I)50;48h, em mg L ⁻¹ de dicromato de potássio para <i>Daphnia similis</i>	54
Tabela 14: Valores de CE(I)50;48h, em g L ⁻¹ de cloreto de sódio para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	56

Tabela 15: Valores de CE(I)50;48h, em mg L⁻¹ de cloreto de sódio para *Danio rerio*. 57

LISTA DE ABREVIATURAS

CE(I)50 : concentração efetiva média que causa imobilidade a 50% dos organismos.

CL50 : concentração que causa morte de 50% dos organismos.

CENO: concentração com efeitos não observados.

CEO : concentração com efeitos observados.

DUA : diuranato de amônio.

DUS : diuranato de sódio.

TCAU : tricarbonato de amônio e uranila.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento das atividades industriais traz consigo o aumento do consumo e descarte de compostos químicos tóxicos. Sabe-se que o número de compostos nocivos lançados nos ecossistemas aquáticos é maior que o número de poluentes encontrados no ar.

Considerando o número de compostos químicos utilizados pelo homem, nove milhões foram listados até 1990 no “ Chemical Abstract Service’s Registry of Chemicals” (MATSUI,1991). Como grande parte deles apresenta potencial de penetração no meio ambiente, é necessário um controle efetivo das concentrações de agentes tóxicos principalmente no meio aquático. Esse, de forma direta ou indireta, vem a ser um receptáculo dessas substâncias que acarretam danos à biota com conseqüências econômicas indesejáveis, uma vez que a total desintoxicação é tão dispendiosa que se torna impossível sua aplicação.

O risco que um agente químico impõe ao ambiente aquático é avaliado através da probabilidade dos danos que suas concentrações ambientais, conhecidas ou estimadas, podem causar (BASSOI *et al.*,1990). De um modo geral, pode-se dizer que um agente químico lançado ao ambiente pode ser considerado seguro quando os riscos apresentados estiverem dentro de condições consideradas seguras.

No caso de efluentes radioativos, outros riscos devem ser avaliados, além daqueles de natureza química, dependendo da origem desse efluente e de suas características. Nesse caso deve ser realizada a monitoração ambiental da atividade radioativa para assegurar que as doses de radiação destes permanecem abaixo dos limites estipulados (CNEN, 1985).

1.1. Controle de Agentes Tóxicos em Efluentes Industriais

O controle de efluentes líquidos pode ser feito através de substâncias específicas ou por meio de testes de toxicidade com organismos aquáticos (CETESB, 1991a e b).

O controle feito através de substâncias específicas vem sendo realizado a partir de determinações estabelecidas pela legislação em vigor, tanto em nível estadual como em nível federal. No artigo 21 da Resolução CONAMA 20 (D.O.U, 1986) estão especificadas as substâncias para as quais foram estabelecidos os padrões numéricos de emissão.

Entretanto, das milhões de substâncias possíveis de serem lançadas ao ambiente aquático por atividades industriais, apenas uma parcela encontra-se nos padrões da legislação, pois seria analítica e economicamente inviável identificar todas as substâncias tóxicas existentes, assim como estabelecer padrões de emissão para cada uma delas e conhecer os efeitos que essas substâncias apresentam para o meio aquático.

Os testes de toxicidade realizados com organismos aquáticos representativos das comunidades biológicas possibilitam a avaliação da toxicidade conjunta dos constituintes de um meio de natureza química complexa, tanto como suas interações.

O controle da toxicidade de efluentes líquidos permite compatibilizar seu lançamento com as características do sistema receptor, de forma que não cause efeitos tóxicos de natureza aguda ou crônica à biota aquática, além de manter esse sistema receptor com suas características para seu enquadramento na classificação das águas, de

acordo com o parágrafo 1º do inciso VIII do artigo 18 do Decreto 8468 e artigo 23 da Resolução CONAMA 20 (D.O.U, 1986).

1.1.1. Testes de Toxicidade

Os testes de toxicidade consistem em expor o organismo-teste à várias concentrações do agente tóxico durante um determinado intervalo de tempo, podendo-se avaliar os efeitos sobre as funções biológicas fundamentais como crescimento, reprodução e sobrevivência.

Quando se utilizam testes de toxicidade para detecção e controle de efluentes industriais, é recomendável que se avalie o efeito de um determinado efluente com pelo menos três espécies de diferentes níveis tróficos, representativas da biota aquática, para que se possa, através do resultado obtido com o organismo mais sensível, estimar o impacto desse efluente num corpo receptor (USEPA, 1986). Alguns efluentes são tóxicos apenas para peixes, outros apenas para microcrustáceos e outros para ambos os organismos (GHERARD-GOLDSTEIN, 1988).

Na descrição dos efeitos de um agente tóxico são considerados, entre outros, os efeitos agudos e crônicos. Essa classificação relaciona-se ao ciclo de vida do organismo que está sendo testado e com o tempo de exposição do mesmo à amostra durante o teste.

Em testes agudos realizados com microcrustáceos, a espécie *Daphnia similis* (Cladocera, Crustacea) é utilizada (CETESB, 1991a; ABNT, 1993). Essa espécie apresenta um ciclo de vida em torno de 45 dias (FALCÃO *et al.*, 1996). Sabendo-se que os estágios

iniciais do ciclo de vida são os mais sensíveis a efeitos agudos, as primeiras 48 horas de vida conferem a essa espécie uma maior sensibilidade para os agentes tóxicos testados, motivo pelo qual o teste tem essa duração.

Nos testes de toxicidade aguda realizados com organismos aquáticos, seria recomendável a utilização de espécies representativas do ecossistema local, que demonstrariam de forma fidedigna os impactos ao meio ambiente de origem. Entretanto, há, no Brasil, carência de estudos da biologia de espécies autóctones, sendo, portanto, desconhecidas as características de manutenção e reprodução desses organismos em laboratório, inviabilizando, assim, a realização de testes de forma contínua.

Como alternativa para testes realizados com peixes, são recomendadas as espécies exóticas *Pimephales promelas* e *Danio rerio* ou outras espécies de sensibilidade conhecidas (CETESB,1997). A espécie *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae), encontrada no mercado como “paulistinha”, é a mais utilizada pela fácil obtenção, manutenção em laboratório e reprodução em cativeiro, fatores importantes na escolha de uma espécie a ser utilizadas para testes (ISO, 1982). A espécie *P. promelas* tem sua introdução no Brasil controlada pelo IBAMA, sendo o usuário responsável por seu confinamento (BERTOLLETI, 2000), o que limita sua utilização em testes de toxicidade, embora seja a espécie que apresente maior número de dados sobre toxicidade para peixes, em função da sua constante utilização em testes em países como Estados Unidos e Canadá.

Para testes de toxicidade crônica utilizando-se algas, onde determina-se a concentração nominal do agente tóxico no início do teste que causa inibição a 50% da biomassa algácea em relação ao controle em noventa e seis horas de exposição

(CE(I)50;96h), utiliza-se a espécie *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae), muito recomendada para testes de toxicidade (FEEMA, 1983; PARRISH, 1985; CETESB, 1992), porque, segundo LEWIS (1993), é de fácil cultivo, visualização e avaliação- critérios fundamentais na escolha de uma espécie para ser utilizada na avaliação da toxicidade com algas.

Em testes crônicos com microcrustáceos, onde são observados efeitos sub-letais, como crescimento e reprodução, recomenda-se utilizar a espécie *Ceriodaphnia dubia* (CETESB, 1991b) que apresenta um ciclo de vida em torno de 21 dias. Como o ciclo de vida é mais curto do que em *Daphnia similis*, em 7 dias de exposição à amostra é possível estimar os efeitos sub-letais dos agentes tóxicos. Testes crônicos com *Daphnia similis* podem ser realizados. No entanto tem duração de 21 dias, requerendo cuidado maior na manutenção dos organismos, principalmente no controle, onde a mortalidade não poderá ser superior a 20%.

1.1.1.1.Efeito agudo

Considera-se como efeito agudo a resposta rápida e severa dos organismos aquáticos a um estímulo que se manifesta, geralmente, em um intervalo de 0 a 96 horas. O efeito poderá ser a letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede como, por exemplo, o estado de imobilidade. Os efeitos agudos em testes de toxicidade são avaliados usando-se geralmente a concentração letal (CL50) ou a concentração efetiva (CE50), ou seja, que causa imobilidade a 50% dos organismos em teste, sendo essa a resposta considerada mais significativa para seu extrapolamento em um nível populacional (CETESB, 1992).

A necessidade de conhecer-se a toxicidade de efluentes estocados, como já é feito por refinarias de petróleo, deve-se ao fato de que os efeitos agudos de agentes tóxicos em organismos aquáticos são observados no ambiente geralmente em acidentes ou situações anômalas em indústrias, onde efluentes não tratados são lançados diretamente no sistema receptor (GOULD, 1961).

1.1.1.2. Efeito crônico

Efeito crônico traduz-se pela resposta a um estímulo que continua por períodos que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo. Esses efeitos são observáveis em casos onde as concentrações de agentes tóxicos permitem a sobrevivência do organismo, mas afetam uma ou mais funções biológicas como crescimento, reprodução, desenvolvimento de ovos. Nos testes de toxicidade crônica, determina-se, entre outras variáveis, a concentração do agente tóxico que não causa o efeito observado (CENO - Concentração de Efeito Não Observado) e a concentração que causa esse efeito (CEO - Concentração de Efeito Observado) (CETESB, 1992).

O efeito crônico pode ser observado em sistemas receptores com efluentes despejados de forma contínua, mesmo tratados, onde os organismos são expostos a baixas concentrações de agentes tóxicos por um longo período de tempo.

1.2.Ciclo do Combustível Nuclear a Base de Urânio

O ciclo do combustível nuclear pode ser definido, de um modo geral, como o conjunto de processos e operações necessários para fabricar combustíveis nucleares, irradiá-los nos reatores nucleares, para tratá-los e armazená-los, temporária ou permanentemente, após irradiação. A Figura 1 apresenta as relações entre as etapas de um ciclo do combustível nuclear típico a base de urânio (LAINETTI, 1991).

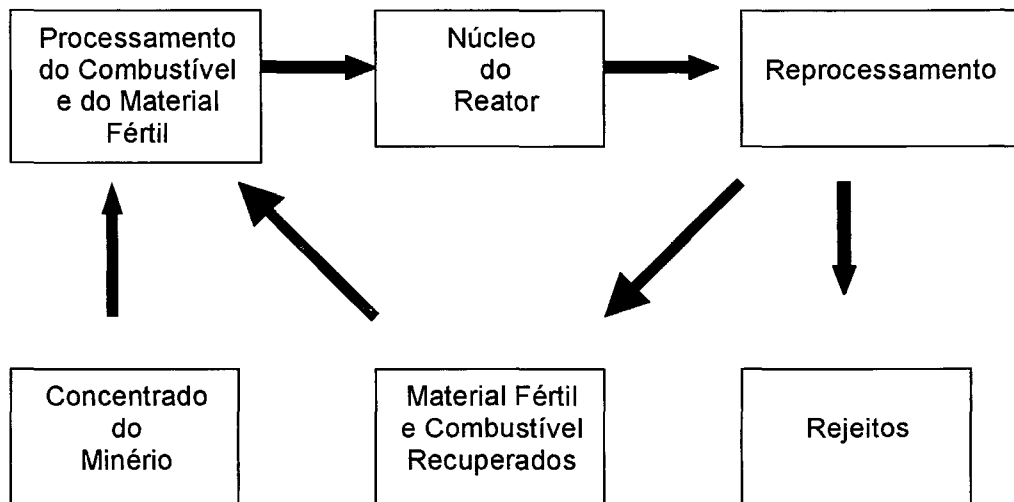


figura 1: Relações entre as etapas de um ciclo do Combustível Nuclear típico (LAINETTI, 1991).

No ciclo do combustível a base de urânio são necessárias várias etapas anteriores de processamento para a obtenção do hexafluoreto de urânio (UF_6), que é a matéria prima para o enriquecimento. No IPEN foram desenvolvidas unidades piloto de processamento de urânio, utilizando como matéria prima o diuranato de sódio (DUS) ou do diuranato de amônio (DUA) passando por várias etapas até a obtenção de UF_6 (COTRIM, 1994; FRANÇA, JR, 1972). Na Figura 2 temos a representação fotográfica da atual Unidade de

Reconversão de UF_6 a DUA. Foram também desenvolvidos no IPEN processos em escala piloto para a obtenção do tricarbonato de amônio e uranilo (TCAU), composto intermediário entre UF_6 e o produto final dióxido de urânio (UO_2) (SANTOS, 1989).



Figura 2: Unidade de Reconversão do Urânio (IPEN/CNEN-SP)

O reator IEA-R1 do IPEN utiliza como combustível o óxido de urânio (U_3O_8) contendo urânio enriquecido a 20%. Para a preparação desse óxido é utilizado como matéria prima o UF_6 com o mesmo grau de enriquecimento. Atualmente, o processo utilizado para a obtenção do elemento combustível parte da calcinação do DUA, obtido da hidrólise do UF_6 enriquecido a fluoreto de uranila (UO_2F_2), seguido da precipitação do diuranato de amônio (DUA) com amônia (NH_3) (COTRIM, 1994). A figura 3 apresenta a representação esquemática da obtenção de U_3O_8 a partir do diuranato de amônio (DUA) enriquecido.

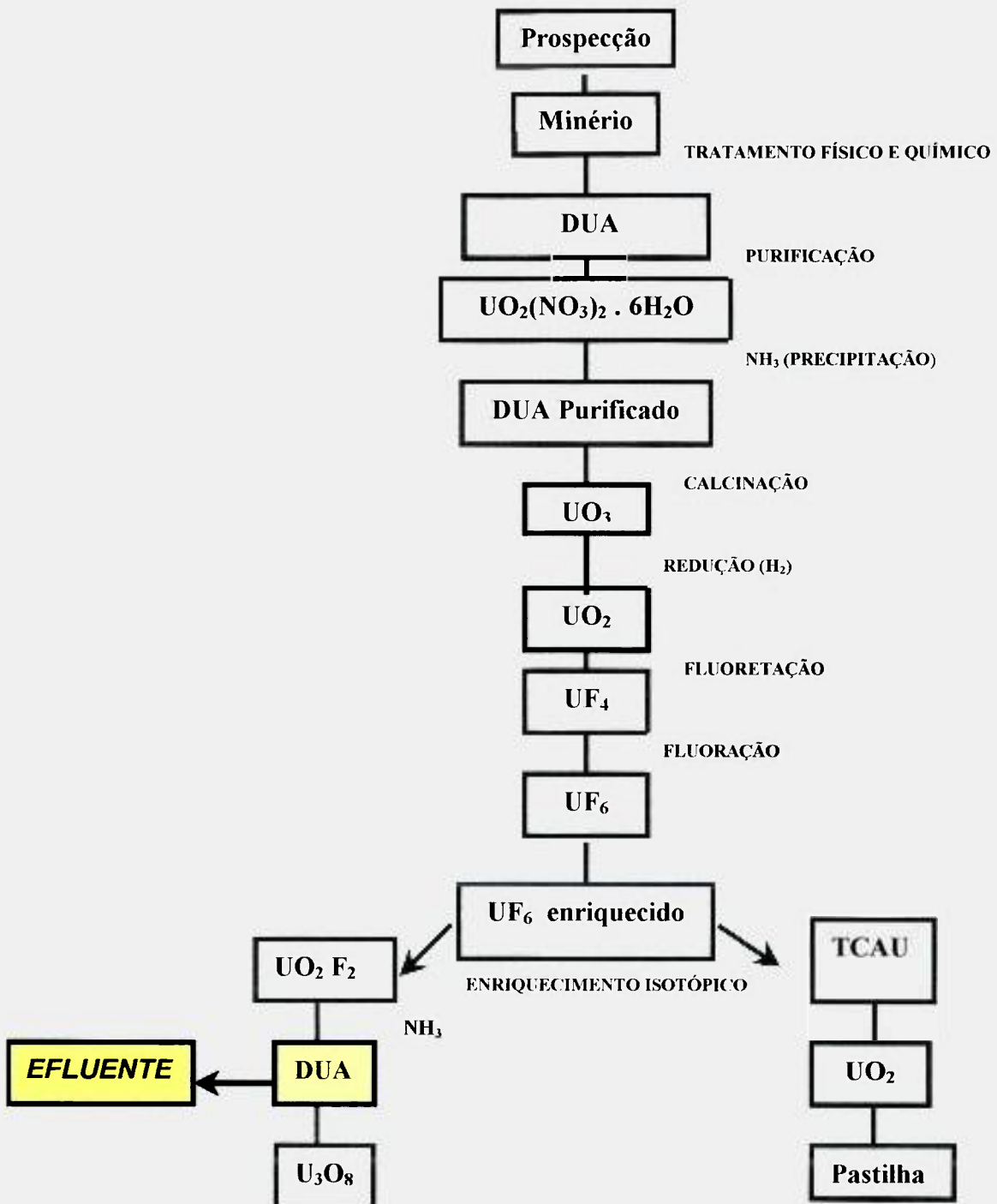


Figura 3 - Diagrama de Blocos da obtenção de U_3O_8 a partir do diuranato de amônio (DUA) enriquecido (COTRIM, 1994; FRANÇA, Jr, 1972, modificado.)

1.2.1. Tratamento e armazenagem do efluente

Os efluentes, decorrentes de processos radioativos, são sempre submetidos a um rigoroso controle a partir do momento de sua produção, durante todo o processo de transporte, até estocagem temporária ou definitiva. De acordo com a concentração de substâncias radioativas, esses despejos podem ser tratados, visando a reativação desses compostos para novo uso, ser armazenados temporariamente até desintegração completa (elementos com meia-vida curta) ou, eventualmente, serem diluídos e despejados em concentrações muito pequenas conforme as normas (CNEN,1985). Em alguns casos, esses efluentes podem escoar para a rede pública ou sistemas receptores, pois são efluentes descontínuos e em concentrações de alguns picocuries, não necessitando de nenhum tratamento, já que não ultrapassam as concentrações permissíveis (BRAILE, 1979) (Figura 4).

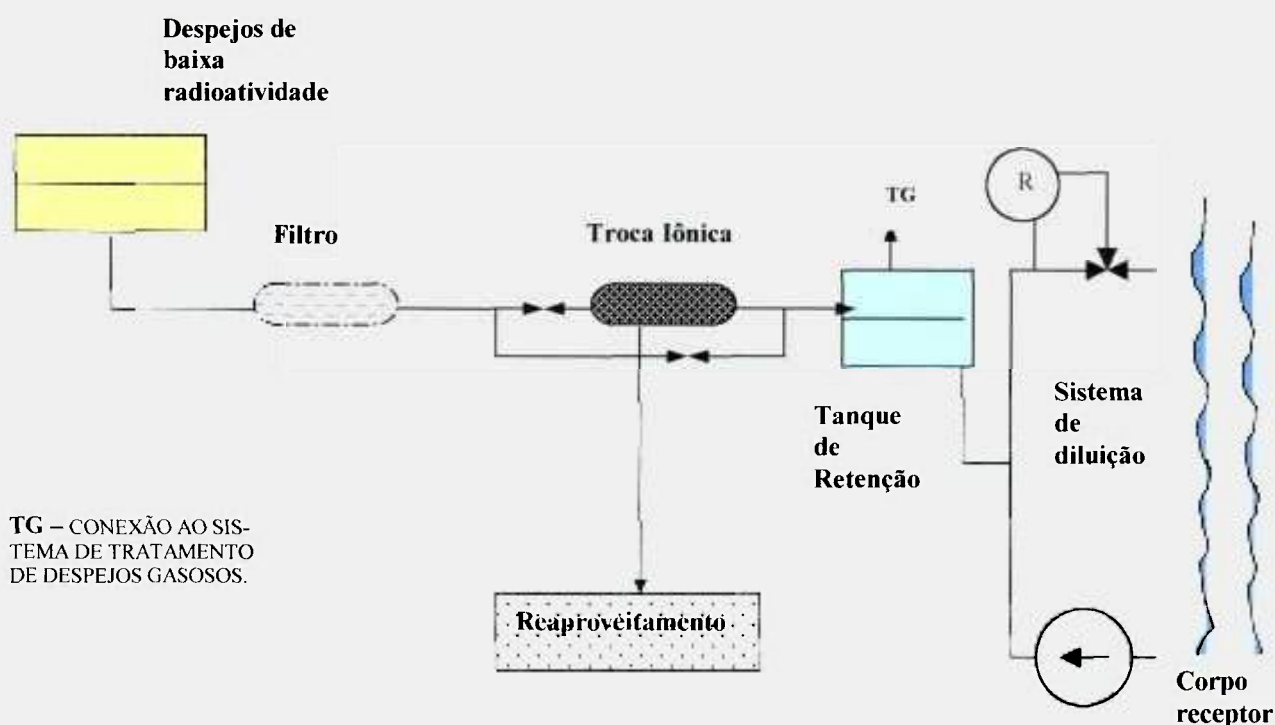


Figura 4: Fontes, tratamento e destinos de despejos de baixa radioatividade de usinas nucleares (modificado de BRAILE, 1979).

Nas instalações nucleares que produzem efluentes, para demonstrar que as doses de radiação destes permanecem abaixo dos limites estipulados, devem ser realizadas medidas *in loco* do nível de radioatividade através de um programa de monitoração ambiental, de caráter confirmatório, que irá estimar se as suposições feitas no cálculo da dose estão corretas (CNEN, 1985). O IPEN mantém um programa de monitoração ambiental com esse objetivo.

De acordo com o programa de impacto ambiental do IPEN, o impacto radiológico provocado pelo conjunto de liberações líquidas de material radioativo de todas as instalações do IPEN é desprezível, quando comparado com os limites recomendados pela norma vigente (CETESB,1994; IPEN,2000).

Na Unidade de Reconversão de Urânio do IPEN, os efluentes são produzidos de forma descontínua, pois trata-se de um projeto piloto de produção de combustível nuclear.

O efluente do processo de obtenção do Diuranato de Amônio apresenta concentrações elevadas de amônia ($14,4 \text{ g L}^{-1}$), fluoreto ($14,1 \text{ g L}^{-1}$) e urânio (21 mg L^{-1}) (**efluente 1**) e esse é tratado por processo de troca iônica, onde os íons radioativos são substituídos por outros íons, através do trocador, de modo que todo o urânio seja recuperado (diminuindo o risco radiológico) para posterior reaproveitamento. O efluente final, com concentração de urânio igual ou menor a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e concentrações de amônio e fluoreto praticamente inalteradas, é armazenado em tambores de polietileno (**efluente 2**), já que as quantidades produzidas são pequenas (FRANJNDLICH, comunicação pessoal) (Figura 5). Esse efluente, após análises, se considerado liberado para descarte, é

eliminado na rede de esgoto, sob responsabilidade da equipe de proteção radiológica (IPEN, 2000).

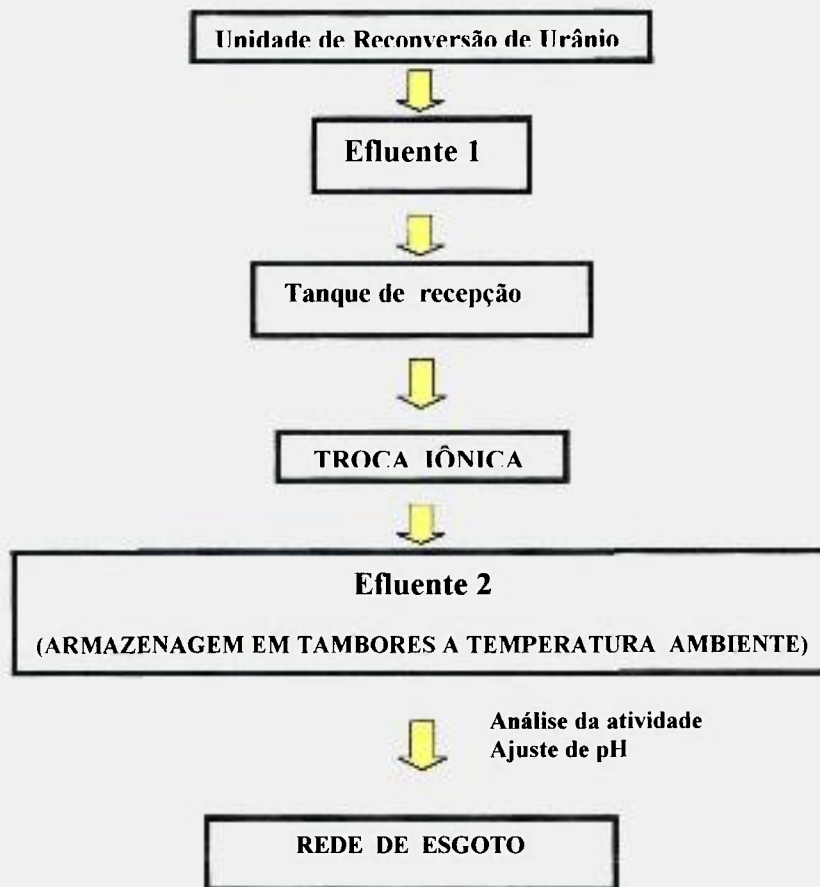


Figura 5- Tratamento do efluente de diuranato de amônio do Ciclo de Reconversão de Urânio (IPEN/CNEN).

1.2.2. Toxicidade

Estudos de toxicidade com efluentes resultantes de processos nucleares apresentam maior ênfase aos efeitos para o ser humano se comparados aos demais organismos presentes na natureza, principalmente os da biota aquática.

Quanto à toxicidade para o ser humano, sabe-se que compostos de urânio (UF_6 e UO_2F_2), considerados solúveis (classe D) (BROWN, 1992), apresentam tempo de retenção de um a dez dias nos pulmões. Quando inalados, passam rapidamente dos pulmões para a corrente sanguínea, devido a alta solubilidade, causando maiores danos aos rins, pois além da radiotoxicidade o urânio exerce nesses órgãos toxicidade química. Quando incorporado em grandes quantidades pode ser letal.

A relação entre a toxicidade química e a toxicidade radiológica dos compostos de urânio depende do tipo de exposição (aguda ou crônica), da classe de solubilidade e do nível de enriquecimento dos compostos. Para exposições agudas a compostos de urânio solúveis, o risco químico é superior ao radiológico, para qualquer nível de enriquecimento. O efeito tóxico mais importante do urânio é o dano aos rins. Altas doses de urânio danificam os tecidos renais, ocasionando uma perda da capacidade funcional. O urânio é classificado entre os compostos que causam efeitos deletérios ao ambiente aquático, embora limite-se a uma determinada área, dependendo das características do sistema receptor onde ocorra a descarga (D. O.U., 1986).

A toxicidade do fluoreto também deve ser levada em consideração nos estudos do ciclo do combustível, uma vez que este está presente em um número grande de etapas de processo. O íon fluoreto penetra nas vias sanguíneas, provoca diminuição do número de eritrócitos e bloqueia a ação de enzimas que participam da degradação oxidativa de glicídios (FELLENBERG, 1990).

NIOSH (1988) estabelece uma concentração de HF de 25 mg m^{-3} como perigosa à vida ou saúde. Doses superiores a $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ podem causar fluoretose esquelética, dada a

afinidade do flúor aos tecidos ósseos (OGA, 1996) e embora o fluoreto seja adicionado às águas de abastecimento público para conferir-lhes proteção à cárie dentária, acima de certas dosagens provoca a fluorose dentária, causando mosqueamento do esmalte dos dentes.

Para a determinação dos níveis de amônia livre em ambientes aquáticos, é necessária a utilização dos valores de pH e temperatura do sistema. A toxicidade do íon amônio em ambientes aquáticos depende desses fatores, pois em solução aquosa, existe um equilíbrio químico entre o íon amônio (NH_4^+) e o composto molecular amônia (NH_3). Sabe-se que o íon amônio é moderadamente tóxico, mas a amônia é muito tóxica para humanos, peixes e invertebrados. Em águas frias e ácidas (pH 6,5, 5°C), uma concentração de amônia total de 63,3 mg L⁻¹ é aceitável, já em um sistema aquático com pH 8,5 e temperatura de 20°C, os níveis de amônia livre não devem ultrapassar 0,22 mg L⁻¹ (ABEL, 1996).

É importante ressaltar que a avaliação e gerenciamento dos riscos oferecidos por agentes químicos e radiológicos têm-se desenvolvido a partir de princípios e considerações marcadamente distintos (BROWN, 1992). Esse aspecto é de grande relevância e pode implicar na definição de valores equivalentes, mas pode exigir mudança na filosofia de avaliação da segurança das instalações de enriquecimento e de outras instalações do ciclo do combustível nuclear que operam com compostos de urânio solúvel (NARDOCCI, 1994).

Os limites máximos permitidos para os agentes químicos presentes no efluente de Diuranato de Amônio, em relação ao padrão de potabilidade de substâncias que

apresentam risco à saúde (BRASIL, 2000), e limites máximos permissíveis para preservação da biota aquática (CONAMA 20,1986) são descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Teores máximos permissíveis das espécies químicas presentes no efluente de processo de DUA, conforme legislação nacional vigente.

	CONAMA 20*	Resolução 1469
Amônia	0,02 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹
Fluoreto	1,4 mg L ⁻¹	1,5 mg L ⁻¹
Urânio	0,02 mg L ⁻¹	–

* Classe 2

Quanto à radioatividade, o Decreto 1469 (BRASIL, 2000) limita a 0,1 Bq L⁻¹ para radioatividade alfa global e 1,0 Bq L⁻¹ para radioatividade beta global os valores máximos permitidos para água potável. A Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN, 1985) limita a quantidade anual total de radionuclídeos, excluindo ³H e ¹⁴C, liberada na rede de esgoto sanitário a 3,7.10¹⁰ Bq.

O presente projeto propõe a realização de uma pesquisa sobre a toxicidade dos efluentes de processo do Diuranato de Amônio proveniente da Unidade de Reconversão de Urânio do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

Chama-se atenção para o fato de que os estudos toxicológicos propostos neste trabalho, para esse tipo de efluente, ainda não foram realizados no país.

2.OBJETIVOS

2.1.Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade aguda e crônica do efluente de processo de diuranato de amônio (DUA), produzido na Unidade de Reconversão de Urânio do IPEN/CNEN – SP.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Determinação das características físicas e químicas do efluente antes e após o tratamento por troca iônica;
- b) Avaliação da toxicidade aguda (imobilidade) do efluente para *Daphnia similis*;
- c) Avaliação da toxicidade aguda do efluente para *Danio rerio*.
- d) Avaliação da toxicidade crônica (efeitos adversos no crescimento) do efluente para *Selenastrum capricornutum*..
- e) Avaliação da toxicidade crônica (efeitos adversos na reprodução) do efluente para *Ceriodaphnia dubia*;
- f) Identificação dos agentes tóxicos responsáveis pela toxicidade.
- g) Avaliação de alterações na toxicidade do efluente em função do tempo de estocagem.
- h) Avaliação de alterações na toxicidade do efluente após o tratamento por troca iônica para *Danio rerio* e *Selenastrum capricornutum*.
- i) Determinação da toxicidade do íon fluoreto para *Daphnia similis*.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.Coleta e preservação da amostra

A coleta, preservação e transporte das amostras foram efetuadas em frascos de polietileno totalmente preenchidos com a amostra a fim de evitar a presença de ar, sendo imediatamente levados ao laboratório e mantidos à temperatura ambiente de modo semelhante ao que é realizado na usina. O restante da amostra, após as análises físicas e químicas, foi preservado em refrigerador até no máximo 96 horas para realização dos testes, sendo o excedente devolvido para armazenamento em tambores plásticos na Unidade de Reconversão de Urânio (IPEN/CNEN).

As primeiras amostras foram coletadas na etapa anterior ao tratamento por troca iônica (efluente 1), com o objetivo de conhecer a toxicidade do efluente com concentração mais elevada de urânio, já que esse dado é desconhecido para esse tipo de teste. Posteriormente foi coletada uma amostra do efluente após o tratamento por troca iônica (efluente 2), com objetivo de determinar ocorrência de alteração na toxicidade.

3.2. Caracterização física e química do efluente

Foram realizadas análises físicas e químicas nas amostras: temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido, dureza, amônio, urânio e fluoreto.

- **Temperatura** - Foi medida utilizando-se termômetro do oxímetro marca Orion, modelo 810.

- **pH** - Utilizou-se um potenciômetro da marca Digimed modelo Dm2.

- **Condutividade elétrica** - Utilizou-se um condutivímetro da marca Orion modelo 150.

- **Oxigênio dissolvido** – Essa variável foi determinada utilizando-se um oxímetro da marca Orion modelo 810.

- **Dureza** – Esse parâmetro foi determinado conforme Norma CETESB (1991 a).

- **Urânio**

Os teores de urânio nos efluentes foram determinados pela técnica voltamétrica de gota pendente de mercúrio. Na determinação voltamétrica, uma alíquota da amostra contendo o U^{+6} é colocada na célula voltamétrica em meio eletrólito suporte. Obteve-se uma curva de potencial *versus* corrente, utilizando-se um eletrodo de mercúrio. Determinou-se o teor de urânio pelo procedimento de adição de padrão (IPEN, Procedimento IPEN QI-056). O equipamento utilizado foi um Polarógrafo Princeton Applied Research – PAR, modelo 174, com eletrodos de gota pendente de mercúrio.

- **Amônio**

As concentrações de amônio (NH_4^+) foram determinadas pela técnica de cromatografia de íons. A cromatografia de íons fundamenta-se no fenômeno de troca iônica, associada a detecção condutométrica e supressão química. A fase móvel é bombeada através do sistema cromatográfico por uma bomba. As amostras são introduzidas no sistema via um injetor *loop*. Para um íon qualquer, o tempo decorrido entre a injeção da amostra e o pico de sua eluição é denominado tempo de retenção. Cada íon tem seu tempo de retenção definido pelo seu característico raio iônico ou, pelas características da coluna separadora.

Nessas análises, uma alíquota de 100 μL do efluente, diluído 2000 vezes com objetivo de atingir-se a faixa de detecção do equipamento, foi introduzida no cromatógrafo Dionex DX 120 onde as concentrações do íon amônio foram determinadas.

- **Fluoreto**

A análise quantitativa de fluoreto é, comumente, dificultada pela presença de cátions com os quais esse ânion forma complexos estáveis. Entre eles destacam-se o próprio urânio na forma de UO^{2+} . Algumas combinações com o fluoreto são muito estáveis, como, por exemplo: AlF^{2+} ($k = 7,4 \cdot 10^{-7}$), FeF^{2+} ($k = 5,2 \cdot 10^{-6}$), ZrF^{3+} ($k = 1,6 \cdot 10^{-9}$) (PIRES, 1989). Dos diferentes métodos de determinação de fluoreto, os mais práticos e com sensibilidade são os métodos potenciométricos que fazem uso do eletrodo íon-seletivo a fluoreto e a cromatografia de íons com detector de condutividade, cujos limites de

detecção para fluoreto na solução a ser medida são $0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

O eletrodo íon seletivo com dispositivo sensível ao íon fluoreto, quando submerso na solução, desenvolve um potencial elétrico que é provocado pela atividade do íon que é proporcional à concentração do íon livre na solução diluída. O equipamento denominado analisador de íons mede esse potencial contra um potencial constante de referência e, uma vez calibrado, fornece o resultado já como concentração do íon na solução.

A determinação direta de fluoreto por eletrodo seletivo na presença de urânio é possível de ser realizada sem a separação deste até uma concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ (KATSUOKA,1996). Dessa forma, devido às características da amostra, a metodologia a ser utilizada foi a determinação em eletrodo íon seletivo utilizando-se como meio uma solução tamponada (TISAB - "Total Ionic Strength Adjustor Buffer") de ácido acético/acetato de sódio, pH 5,3-5,5. Para determinação de fluoreto na presença de concentrações maiores que $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de urânio, é necessário que se adicione um complexante (0,1M de citrato de sódio) na solução tampão. As medidas potenciométricas para a determinação de fluoreto foram realizadas sob agitação constante, três minutos após a introdução dos eletrodos, em copos plásticos descartáveis, contendo 10 mL de solução padrão ou amostra e 10 mL de TISAB (IPEN, Procedimento IPEN QI-049).

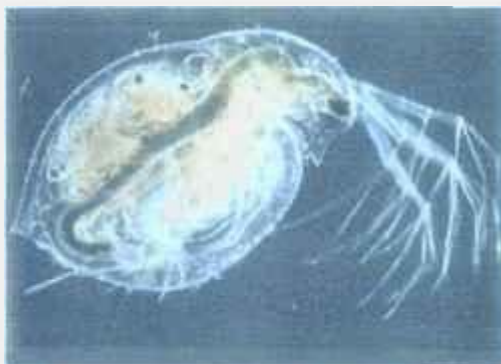
3.3. Avaliação da toxicidade do efluente de processo de DUA

3.3.1. Toxicidade aguda

3.3.1.1. Toxicidade aguda para *Daphnia similis*

A metodologia adotada para os testes agudos baseou-se nas normas da EPA (1991) e CETESB (1992).

Foram utilizadas fêmeas jovens, com menos de 24 horas de idade, nascidas dentro de um período de oito horas, obtidas a partir do cultivo individual. As fêmeas foram separadas sob microscópio estereoscópico. A Figura 6 apresenta a representação fotográfica de uma fêmea embrionada de *D. similis*.



Fonte: SETAC 2001

Figura 6: Fêmea embrionada de *Daphnia similis*

Com a finalidade de estabelecer o intervalo de concentração para o teste de toxicidade definitivo, foram realizados testes agudos de 48 horas a fim de conhecer a toxicidade da amostra, determinando-se o intervalo entre a menor concentração que causa

imobilidade a 100% dos organismos e a maior concentração que não causa imobilidade. Os valores de concentração inicialmente escolhidos foram: 1%, 3%, 10%, 30%, 60%, 90% e 100%. Posteriormente, foram estabelecidas as concentrações de 0,1%; 0,2%; 0,4%; 0,8% e 1,2%, numa escala geométrica.

Os testes foram realizados em tubos de ensaio aferidos para 10 mL, onde utilizou-se 4 réplicas para cada amostra. Em cada réplica foi acondicionado 10 mL da amostra e 5 neonatas (Figura 7). Os testes tiveram duração de 48 horas, sendo mantidos a 20°C (± 2), no escuro, em incubadora. Durante este período os organismos não foram alimentados e as variáveis de pH e oxigênio dissolvido foram analisadas no início e no final de cada teste. De acordo com a CETESB (1991), *Daphnia similis* apresenta imobilidade quando o pH é inferior a 4,5 e superior a 9,5. Segundo norma da EPA (1991), quando o pH de uma amostra está fora da faixa compreendida entre 6,0 e 9,0, a toxicidade devido a outros fatores pode ser mascarada pelo efeito tóxico da acidez ou alcalinidade do meio.



Figura 7: Etapas do teste de toxicidade aguda para *D. similis*: Soluções testes com organismos inoculados (esquerda) e Teste realizado na incubadora (direita).

Ao término do teste, os organismos foram analisados quanto a sua mobilidade sob microscópio estereoscópico. Aqueles que não apresentaram movimento num intervalo de 15 segundos foram considerados imóveis (CETESB,1992).

3.3.1.1.1. Avaliação da toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis*

Para a espécie estudada, a toxicidade aguda do íon fluoreto ainda é pouco conhecida. Com o objetivo de estimar as concentrações que causam toxicidade aguda para *Daphnia similis* foram realizados cinco testes com fluoreto de sódio (NaF). Como água de diluição, utilizou-se água destilada reconstituída para dureza entre 40 e 48 mg L⁻¹ de CaCO₃. Foram estabelecidas as seguintes concentrações: 50, 100, 200, 400 e 800 mg L⁻¹ do ânion fluoreto. As condições para realização desses testes foram: temperatura de 20°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 2000lux. Os organismos não foram alimentados durante o teste.

3.3.1.2. Avaliação da toxicidade aguda para *Danio rerio*

A metodologia adotada para os testes de toxicidade aguda com peixes em sistema estático baseou-se nas normas da CETESB (1997) e EPA (1994).

Foram utilizados organismos de tamanho homogêneo e da mesma idade, obtidos junto ao criador e mantidos em aclimatação durante o período mínimo de uma semana. Os

testes foram realizados em aquários com capacidade total de três litros. Em cada recipiente foram acondicionados 2,0 litros da amostra e 5 peixes, assim foram utilizados três recipientes para cada solução-teste de modo que cada concentração fosse testada em 15 organismos. Os testes tiveram duração de 48 horas, sendo mantidos a 23°C (± 2) em incubadora. Durante esse período os organismos não foram alimentados e as variáveis de pH e oxigênio dissolvido foram analisadas no início e no final de cada teste.

A letalidade ocorrida durante o teste foi anotada após 3, 6, 24 e 48 horas, sendo que os peixes mortos foram retirados e conservados em formaldeído 4%, para posterior obtenção de dados biométricos. Foram considerados mortos os peixes que não demonstraram reação após serem tocados no pedúnculo caudal.

Com a finalidade de estabelecer o intervalo de concentração para o teste de toxicidade definitivo, foram realizados testes de toxicidade aguda de 48 horas de duração, a fim de conhecer a toxicidade da amostra, determinando-se o intervalo entre a menor concentração que causa imobilidade a 100% dos organismos e a maior concentração que não causa imobilidade. Os valores de concentração inicialmente escolhidos foram: 0,01%; 0,032% ; 0,1% ; 0,32; 1,0%. Posteriormente, foram estabelecidas para os testes finais as concentrações de 0,032%; 0,042%; 0,056%; 0,078% e 0,10%.

3.3.2. Avaliação da toxicidade crônica

3.3.2.1. Avaliação da toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*

Este é um teste crônico (EPA, 1989), o qual tem por objetivo avaliar a toxicidade de substâncias químicas solúveis em água presentes na amostra, sobre o crescimento de uma cultura específica de alga.

Para a execução do teste, expõe-se uma cultura de algas em fase exponencial de crescimento à amostra por 96 horas em determinadas condições (temperatura $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, intensidade luminosa de 2800 lux e a agitação entre 100 a 150 rpm).(Figura 8)

Os testes foram realizados preparando-se 100 mL de amostra em meio de cultura L. C. Oligo, em 4 frascos erlenmeyer de 250 mL. Com o auxílio de pipeta esterilizada, adicionou-se 1 mL de inóculo, previamente preparado, com concentração aproximada de 1×10^7 céls.mL⁻¹, de modo a se obter um inóculo de 1×10^5 céls. mL⁻¹. Após a inoculação os frascos foram fechados e colocados em uma mesa agitadora, à temperatura ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$), agitação (100 a 150 rpm) controladas e intensidade luminosa conhecida (2800 lux) por um período de 96 horas. Foram escolhidas após teste preliminar as concentrações: 0,12%; 0,25%; 0,50%; 1,00% e 10,0%.

Os frascos foram distribuídos aleatoriamente na mesa agitadora e sua posição alterada diariamente, diminuindo, assim, as possíveis diferenças de luminosidade e temperatura no crescimento das algas. Ao final do período de 96 horas os erlenmeyers foram retirados da incubadora e uma alíquota da amostra foi transferida para um frasco

esterilizado onde, para melhor conservação, foi adicionado 1 mL de lugol. Esses frascos foram mantidos sob refrigeração constante (4 °C) até o momento da contagem.



Figura 8: Teste de toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum*

Utilizando-se um microscópio óptico e uma câmara de Neubauer, realizou-se a contagem celular em todas as amostras. Além do número, observou-se também o tamanho e o formato das células.

3.3.2.2. Avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia*

A metodologia adotada fundamentou-se nas normas da EPA (1994) e CETESB (1992).

Para cada teste, inicialmente foi realizado um teste preliminar para a determinação das faixas de concentração a serem utilizadas nos testes definitivos, como descrito anteriormente para *Daphnia similis*. Nos testes preliminares chegou-se até os valores de

0,1%; 0,05%; 0,025%; 0,012% e 0,006%, que foram utilizados nos testes definitivos. Essas diluições foram realizadas utilizando-se pipetas volumétricas de 200 μ L e 500 μ L a fim de garantir a precisão das concentrações.

3.4.Cultivo e manutenção dos organismos-teste

3.4.1. Cultivo de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*

3.4.1.1. Água de cultivo

Daphnia similis e *Ceriodaphnia dubia* foram cultivadas em água de fonte natural, coletada na Represa Paiva Castro (Mairiporã, SP), filtrada em rede de plâncton 45 μ m com objetivo de retirar possíveis organismos presentes e autoclavada. Foram monitorados valores de pH, dureza e condutividade, além de análise química por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma (ICP), que revelou concentrações de agentes químicos abaixo do limite máximo permissível para água de Classe 1 (CONAMA, 1986). De acordo com a Norma CETESB (1992), as variações mensais desses parâmetros são consideradas, sendo que as alterações de pH devem ser menores que 0,7 unidades de sua média e que os demais parâmetros não devam variar mais do que 10% de suas respectivas médias.

A dureza foi ajustada até a obtenção de valores entre 40 e 48 mg L⁻¹ de CaCO₃, conforme Norma CETESB (1992). O pH foi ajustado para 7,0.

3.4.1.1.1. Testes de viabilidade de água de cultivo para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*

Testes de viabilidade de água de cultivo foram realizados conforme procedimento descrito na Norma CETESB (1992).

Foram colocadas 10 neonatas de *Daphnia similis* em 100 mL de água, em cinco réplicas, sem alimentação, por 48 horas, nas condições de manutenção do cultivo-estoque, ou seja, 20°C, intensidade luminosa de 2000 lux e fotoperíodo de 16 horas/luz. Após 48 horas, não pode haver imobilidade superior a 10% para aceitabilidade da água de cultivo.

Para cada novo lote de água a ser utilizado, um teste de viabilidade da água foi realizado.

3.4.1.2. Alimento

A alga *Selenastrum capricornutum*, em fase exponencial de crescimento, foi empregada como alimento para os cultivos de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*.

O cultivo foi realizado de acordo com a Norma CETESB (1992), em meio nutriente L.C.Oligo. As culturas foram mantidas em incubadora, sob aeração e luminosidade constantes, intensidade luminosa de 2800 lux, temperatura de 24°C (± 2). Diariamente foi preparada uma suspensão de 1×10^5 células/mL como alimento para os cladóceros. Como complemento alimentar, as culturas de *Ceriodaphnia dubia* receberam diariamente uma ração composta, preparada a partir de ração de peixe e fermento conforme Norma

CETESB (1992). Este alimento foi adicionado de forma que a quantidade de sólidos totais fosse de 1,7 a 1,9 g L⁻¹.

3.4.1.3. Condições de cultivo

3.4.1.3.1. Condições de cultivo de *Daphnia similis*

Cerca de 60 organismos adultos e 80 jovens foram dispostos em béquer de 2000 mL, sendo dois recipientes para adultos e dois para os jovens. A água foi trocada três vezes por semana, em dias alternados. Os filhotes com menos de 24 horas de vida foram obtidos, para os testes, isolando-se fêmeas embrionadas, selecionadas sob microscópio estereoscópico, em copos de béquer de 250 ml. Os cultivos foram mantidos em incubadora a 20°C (± 2), intensidade luminosa de 2000 lux e fotoperíodo de 16 horas/luz (Figura 9).



Figura 9: Cultivo de *Daphnia similis* no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente (IPEN/CNEN-SP)

Para evitar a superpopulação foram realizadas repicagens, semanalmente, reduzindo o número de indivíduos a 50 por litro. Os indivíduos foram retirados com pipetas para evitar danos.

3.4.1.3.2. Condições de cultivo de *Ceriodaphnia dubia*

Dois tipos de cultivos foram realizados:

- 1) Cultivos populacionais, onde 60 fêmeas adultas e 80 jovens foram mantidas em béquer de 1000 mL separadamente ;
- 2) Cultivos individuais, onde 30 indivíduos jovens (com menos de 24 horas de vida), gerados por organismos provenientes dos cultivos em massa, foram dispostos individualmente em béquer de 50 mL, preenchidos com 30 mL de água de cultivo. Dos cultivos individuais, foram obtidos os filhotes com menos de 24 horas de vida para os testes de toxicidade. A Figura 10 mostra a representação fotográfica de uma fêmea embrionada de *C. dubia*.



FONTE: MONTEIRO, 2001

Figura 10: Fêmea embrionada de *Ceriodaphnia dubia*.

As culturas foram mantidas em incubadora a 25°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas/luz e intensidade luminosa de 2000 lux. A troca de água de cultivo foi feita de dois em dois dias.

Foram realizadas repicagens semanalmente com objetivo de evitar a superpopulação, mantendo-se apenas 50 indivíduos por litro.

3.4.1.4. Determinação da faixa de sensibilidade

3.4.1.4.1. Determinação da faixa de sensibilidade para *Daphnia similis*

Para o controle das condições fisiológicas das espécies utilizadas em testes de toxicidade, é necessário, a realização de testes com uma substância de referência, de modo a verificar se a imobilidade ou mortalidade encontra-se dentro do intervalo conhecido para a espécie. Com o objetivo de determinar-se a faixa de sensibilidade nas condições dos cultivos de *Daphnia similis*, foram realizados testes com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) de acordo com CETESB (1992). Como água de diluição, utilizou-se água destilada reconstituída para dureza entre 40 e 48 mg L⁻¹ de CaCO₃. Foram estabelecidas as seguintes concentrações: 0,01; 0,02; 0,048; 0,085; 0,17 e 0,35 mg L⁻¹. Os organismos são considerados saudáveis quando o valor de CE(I)50;48H (Concentração Efetiva Média) permanecer dentro de uma faixa de estabelecida com dicromato de potássio (CETESB,1992).

As condições para realização desses testes foram: temperatura de 20°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 2000lux. Os organismos não foram alimentados durante o teste.

3.4.1.4.2. Determinação da faixa de sensibilidade para *Ceriodaphnia dubia*.

Para *Ceriodaphnia dubia* utiliza-se como substância de referência o cloreto de sódio (CETESB, 1992). Como água de diluição, utilizou-se água destilada reconstituída para dureza entre 40 e 48 mg L⁻¹ de CaCO₃. Foram estabelecidas as seguintes concentrações: 0,7 ; 1,0 ; 1,3 ; 1,6 e 1,9 g L⁻¹. Os organismos são considerados saudáveis quando o valor de CE(I)50;48H (Concentração Efetiva Média) permanecer dentro de uma faixa de estabelecida com cloreto de sódio (CETESB,1992).

As condições para realização desses testes foram: temperatura de 25°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 2000lux. Os organismos não foram alimentados durante o teste.

3.4.2. Condições de manutenção de *Danio rerio*

Os organismos obtidos diretamente do criador foram dispostos inicialmente em aquários com capacidade total de 100 litros, onde foram colocados 80 litros de água de manutenção obtida da rede de abastecimento, desclorada por aeração intensa durante 24 horas. Em cada recipiente foram colocados 100 organismos, sendo que a massa média dos organismos de cada lote adquirido não ultrapassou 0,30 gramas, onde foi mantida a relação

entre massa dos organismos e volume de água de manutenção igual a 0,375g de peixe por litro de água. Essa relação é menor que a máxima recomendada pela norma CETESB L5.019-II (1997), de 1 grama de peixe para cada litro de água de manutenção. Após um período de aclimatação de 24 horas, os organismos que não apresentaram sinais de doença ou comportamento anormal, foram transferidos para aquários com capacidade total de 32 litros, onde foram colocados 55 indivíduos, mantidos durante uma semana para aclimatação total. A água de manutenção foi mantida à temperatura de 25°C (\pm 2°C), dureza 42 mg L⁻¹CaCO₃ e pH 7,0 (\pm 0, 2), intensidade luminosa de 400 lux e fotoperíodo de 12 horas/luz.

A água foi aerada por meio de compressores de ar com saídas conectadas a sistemas de filtragem com lã acrílica e carvão ativo, auxiliando, assim, a manutenção da qualidade da água, embora 25% do volume total fosse trocado a cada 7 dias (Figura 11).



Figura 11: Sistema de manutenção e testes com peixes do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Centro de Química e Meio Ambiente (IPEN/CNEN-SP).

3.4.2.1. Alimentação

A alimentação de peixes pode ser feita com rações destinadas a essa finalidade, recomendando-se que esta contenha pelo menos 40% de proteína bruta e fornecendo-se diariamente a média de 4% de ração por massa fresca dos peixes. Na alimentação dos organismos, foi utilizada a ração Tetramin[®] ministrada conforme recomendado pelo fabricante, de acordo com a norma (CETESB,1997), por corresponder às exigências nutricionais da espécie em questão, já que essa vem sendo criada pelos piscicultores e aquaristas com grande êxito quando alimentada com esse produto.

3.4.2.2. Viabilidade da água de manutenção

Quando utiliza-se água da rede de abastecimento desclorada para manutenção de peixes utilizados em testes de toxicidade, recomenda-se que sejam feitos testes de viabilidade dessa água (CETESB, 1997).

Em três aquários com capacidade para 3,0 litros de água, foram colocados 2,0 litros de água e cinco organismos, por um período de 48 horas. Os aquários foram mantidos nas condições de manutenção dos organismos e estes não foram alimentados. Após 48 horas fez-se a leitura do teste anotando-se o número de organismos vivos e imóveis. A água utilizada para manutenção é aceitável para uso quando a porcentagem de imobilidade dos organismos não exceda 10%.

3.4.2.3. Determinação da faixa de sensibilidade para *Danio rerio*

Para cada lote de peixe adquirido ou coletado para testes de toxicidade deve ser avaliada a sensibilidade através da determinação da CL(I)50;24h, utilizando-se como substância de referência o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). Como água de diluição, utilizou-se água de manutenção. Foram estabelecidas as seguintes concentrações: 200,0; 100,0; 50,0; 25,0 e 12,5 mg L⁻¹. Os organismos são considerados saudáveis quando o valor de CE(I)50;48H (Concentração Efetiva Média) permanecer dentro de uma faixa estabelecida para a substância (CETESB,1997).

As condições para realização desses testes foram: temperatura de 25°C (± 2), fotoperíodo de 12 horas-luz e intensidade luminosa de 400 lux. Os organismos não foram alimentados durante o teste.

3.4.3. Cultivo de *Selenastrum capricornutum*

A metodologia utilizada no cultivo de *Selenastrum capricornutum* foi descrita no item 3.4.1.2., já que esta alga foi utilizada como alimento para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*.

3.5. Análise estatística

Para o cálculo da toxicidade aguda, onde determina-se a CL(I)50; 24 ou 48 horas, ou seja, a concentração de agente tóxico que causa imobilidade para 50% dos organismos expostos no período de 24 ou 48 horas (CETESB,1992), foi utilizado o programa computacional “LC50 Programs JSPear test” (HAMILTON *et. al*,1977).

Na avaliação da toxicidade crônica, onde determina-se o CENO (Concentração de Efeito Não Observado) e o CEO (Concentração de Efeito Observado), foi utilizado o programa computacional “TOXTAT 3.3 Computer Program” (GULLEY *et al.*, 1991).

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características físicas e químicas do efluente

O efluente de processo do diuranato de amônio, proveniente do Ciclo de Reconversão do Urânio (IPEN/CNEN), é gerado de forma descontínua. As amostras foram obtidas de um tambor de estocagem do efluente acondicionado em 21/03/2000 e 20/12/2000 em fase anterior ao tratamento por troca iônica, sendo esse o efluente disponível no início do trabalho, e armazenado durante a execução dos testes de toxicidade.

Posteriormente foi obtido efluente tratado por processo de troca iônica, o qual foi utilizado em dois testes de toxicidade aguda com peixes (testes 4 e 5) e um teste de toxicidade crônica com algas (teste 3), com objetivo de conhecer qualquer alteração na toxicidade do efluente após esse tratamento.

Segundo RAND & PETROCELLI (1985), esse efluente pode ser considerado simples por originar-se de um único processo de produção e apresentar composição química definida, sendo necessário em seu monitoramento apenas o controle das concentrações das espécies presentes.

No efluente do DUA estão presentes amônio, fluoreto e urânio.

Durante a primeira etapa do projeto foram realizadas três análises de amostra do efluente anterior ao tratamento por troca iônica. Duas análises são referentes à amostra de

23/03/2000, com intervalo de seis meses, cujo objetivo era conhecer a estabilidade química do efluente durante a estocagem. A terceira análise é referente à amostra de 20/12/2000, com o objetivo de comparar as concentrações dos agentes químicos presentes nas amostras do efluente em cada processo de produção. Os resultados obtidos na determinação das características físicas e químicas do efluente estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Características físicas e químicas do efluente de processo de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP)

Parâmetro	Efluente DUA (23/03/2000)	Efluente DUA (18/09/2000)	Efluente DUA (20/12/2000)	Média	Desvio padrão	Coef. de variação	método
pH	10,7	10,4	10,4	10,5	0,17	1,61%	APHA (1995)
Dureza (mg L ⁻¹ CaCO ₃)	6,2	5,0	5,7	5,6	0,60	10,7%	APHA (1995)
Condutividade (mS cm ⁻²)	22,8	23,3	23,5	23,2	0,36	1,55%	APHA (1995)
Urânio (U ⁶⁺) (mg L ⁻¹)	22,0	20,0	21,0	21	1,41	6,71%	IPEN QI-079
Fluoreto (F ⁻) (g L ⁻¹)	13,6	14,4	14,3	14,1	0,43	3,04%	IPEN QI-056
Amônio (NH ₄ ⁺) (g L ⁻¹)	14,3	14,5	14,4	14,4	0,10	0,69%	Cromatografia de íons

Esses resultados mostram a estabilidade química do efluente durante o período de armazenamento, já que este fica armazenado em tambores fechados de polietileno na própria unidade até que seja feito o tratamento por troca iônica, o que reflete na persistência da toxicidade.

Foram realizadas análises em uma amostra do efluente após o tratamento por troca iônica (amostra de 23/03/2000), para observar as possíveis alterações nas concentrações

dos agentes químicos presentes. Observou-se que as concentrações de amônio ($14,2 \text{ g L}^{-1}$) e fluoreto ($13,9 \text{ g L}^{-1}$) permanecem praticamente inalteradas. Já a concentração de urânio (U^{+6}) diminuiu a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, evidenciando a eficiência desse tratamento na remoção do urânio.

A Tabela 3 mostra as concentrações dos agentes químicos presentes no efluente nas concentrações utilizadas nos testes de toxicidade com *D. rerio* e *S. capricornutum*, considerando as concentrações médias obtidas nas análises efetuadas.

Tabela 3: Concentrações de amônio, fluoreto e urânio nos testes de toxicidade realizados com as amostras antes e após o tratamento por troca iônica.

Concentrações do efluente (%)	Amônio		Fluoreto		Urânio	
	Efluente 1	Efluente 2	Efluente 1	Efluente 2	Efluente 1	Efluente 2
0,01	1,44mg L ⁻¹	1,42 mg L ⁻¹	1,41 mg L ⁻¹	1,39 mg L ⁻¹	2,1µg L ⁻¹	0,1µg L ⁻¹
0,03	4,32 mg L ⁻¹	4,26 mg L ⁻¹	4,23 mg L ⁻¹	4,17 mg L ⁻¹	6,3µg L ⁻¹	0,3µg L ⁻¹
0,06	8,64 mg L ⁻¹	8,52 mg L ⁻¹	8,46 mg L ⁻¹	8,34 mg L ⁻¹	12,6µg L ⁻¹	0,6µg L ⁻¹
0,10	14,40 mg L ⁻¹	14,20 mg L ⁻¹	14,10 mg L ⁻¹	13,90 mg L ⁻¹	21,0µg L ⁻¹	1,0µg L ⁻¹
0,20	28,80 mg L ⁻¹	28,40 mg L ⁻¹	28,20 mg L ⁻¹	27,80 mg L ⁻¹	42,0µg L ⁻¹	2,0µg L ⁻¹
0,32	46,08 mg L ⁻¹	46,04 mg L ⁻¹	45,12 mg L ⁻¹	44,48 mg L ⁻¹	67,2µg L ⁻¹	3,2µg L ⁻¹
0,40	57,60 mg L ⁻¹	56,80 mg L ⁻¹	56,40 mg L ⁻¹	55,60 mg L ⁻¹	84,0µg L ⁻¹	4,0µg L ⁻¹
0,80	115,20 mg L ⁻¹	113,60 mg L ⁻¹	112,80 mg L ⁻¹	111,20 mg L ⁻¹	168,0µg L ⁻¹	8,0µg L ⁻¹
1,00	144,00 mg L ⁻¹	142,00 mg L ⁻¹	141,00 mg L ⁻¹	139,00 mg L ⁻¹	210,0µg L ⁻¹	10,0µg L ⁻¹
1,20	172,80 mg L ⁻¹	170,40 mg L ⁻¹	169,20 mg L ⁻¹	166,80 mg L ⁻¹	252,0µg L ⁻¹	12,0µg L ⁻¹

Efluente 1: Anterior ao tratamento por troca iônica (valores médios das análises).

Efluente 2: Após o tratamento por troca iônica.

Algumas características próprias dos efluentes devem ser consideradas, a fim de se conhecer o comportamento de parâmetros que podem provocar a alteração da toxicidade.

Experiências demonstram que aumentos de temperatura podem, por exemplo, aumentar a velocidade de degradação de possíveis constituintes da amostra, aumentar a volatilização de outros ou deslocar equilíbrios químicos. Essas variações têm demonstrado grande influência nas respostas de organismos como *S. capricornutum*, *C. dubia* e *P. promelas* à presença de toxicantes (SETAC,1995), por essa razão os valores de temperatura foram monitorados durante os testes de toxicidade.

O pH da solução teste pode afetar a toxicidade de varias substâncias que sofrem ionização sob sua influência (amônia, cianetos, metais) (COONEY,1995). A toxicidade de metais como cobre, zinco e urânio aumentam em valores de pH menores que 7,0, associada a maior biodisponibilidade destes nessas condições. O pH da solução testada tem grande influência na concentração de amônia não-ionizada (NH_3), muito mais tóxica que o íon amônio (NH_4^+). As influências do pH e da temperatura sobre a porcentagem de amônia não-ionizada são mostradas na Tabela 4.

Tabela 4: Porcentagem de amônia não-ionizada (NH_3) em soluções aquosas em função da temperatura e do pH (modificado de SETAC, 1995).

pH	10°C	15°C	20°C	25°C
6.5	0,589	0,0865	0,12	0,180
7.0	0,186	0,273	0,396	0,566
7.5	0,586	0,859	1,24	1,77
8.0	1,83	2,67	3,82	5,38
8.5	5,56	7,97	11,2	15,3
9.0	15,7	21,5	28,4	36,3

Alguns autores recomendam que, quando se considera que o pH pode estar alterando os resultados dos testes de toxicidade, deve-se corrigir seus valores para os indicados na metodologia utilizada (COONEY,1995).

Considerando que no efluente estudado neste trabalho a amônia é um dos principais componentes, o ajuste do pH poderia mascarar o efeito tóxico do mesmo no corpo receptor, já que ao serem preparados os testes, sua adição causa um aumento de pH na

água de diluição mesmo nas menores concentrações, já que seu pH em estado natural é próximo a 9,0. Neste trabalho não houve ajuste do pH para que a toxicidade da amônia fosse verificada, porém o efluente do processo de diuranato de amônio tem seu pH ajustado antes do descarte, de modo que seus efeitos tóxicos sejam minimizados.

A dureza da água de diluição é também um fator importante nos testes de toxicidade. POSTON et al. (1984) resalta a importância desse parâmetro na avaliação da toxicidade do urânio, já que em sistemas de água doce o íon uranila (UO_2^{+2}) dissolvido apresenta grande afinidade por íons carbonato (CO_3^{-2}), resultando complexos de certa estabilidade como $\text{UO}_2(\text{CO}_2)^{-1}$ e $\text{UO}_2(\text{CO}_3)^{-4}$ em águas com valores de pH maiores que 6,0. Essa complexação demonstra a alta mobilidade do urânio em sistemas de água doce. Nos testes realizados neste trabalho, utilizou-se água de diluição com valores de dureza entre 46 e 48 $\text{mg L}^{-1}\text{CaCO}_3$ e os volumes de efluente utilizados nas diluições extremamente baixos, ficando a dureza da solução testada alterada na ordem de 1 $\text{mg L}^{-1}\text{CaCO}_3$.

Em relação à presença de fluoretos, a dureza da água deve ser considerada devido à grande afinidade desse ânion pelo cálcio, ocorrendo formação de complexos, diminuindo as concentrações de fluoreto livre nas soluções.

4.2 Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio para *Daphnia similis*

Foram realizados cinco testes de toxicidade aguda com amostras do efluente de diuranato de amônio da Unidade de Reconversão de Urânio do IPEN proveniente da produção de 21/03/2000, a saber: teste1- 23/05/2000, teste2 - 16/06/2000, teste 3-14/07/00, teste 4 –

20/07/2000 e teste 5 – 20/09/2000. Os resultados obtidos estimam valores de EC(I)50;48h entre 0,39 % e 0,57% de concentração de efluente, conforme apresentado na Tabela 5 e na Figura 12.

Tabela 5 – Valores de CE(I)50;48h, em % do efluente de processo de Diuranato de Amônio, para *Daphnia similis*.

Teste n°	CE(I)50;48h (%)	Intervalo de Confiança
1	0,57	0,54-0,60
2	0,50	0,39-0,65
3	0,39	0,30-0,49
4	0,40	0,33-0,48
5	0,43	0,34-0,53
CE(I)50;48h médio (%)		0,46
Faixa de toxicidade		0,39 a 0,57
Desvio padrão		0,14
Coefficiente de variação		16%

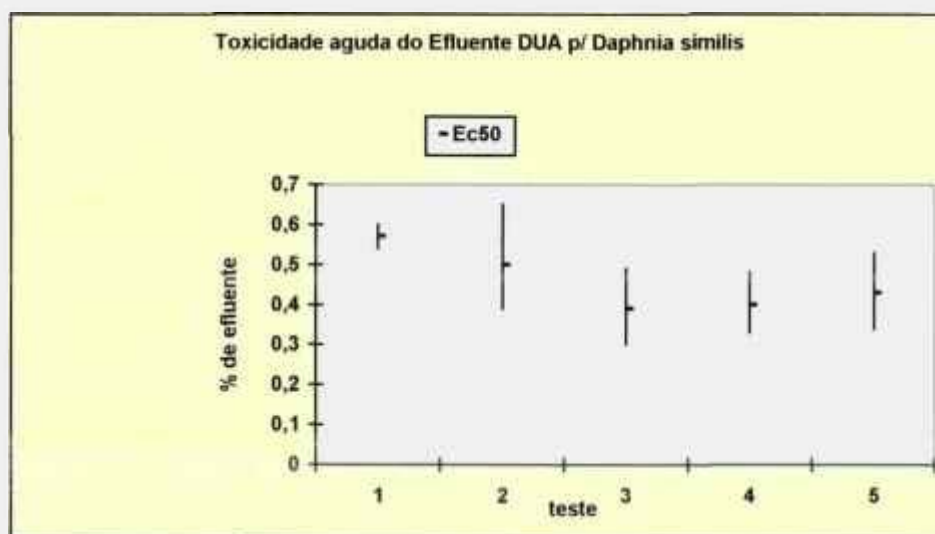


Figura 12: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP) para *Daphnia similis*.

Embora os testes tenham sido efetuados com intervalos de tempo que variaram entre si, observou-se pelos resultados obtidos que a toxicidade do efluente não apresentou variação durante o período total em que este ficou armazenado, caracterizando a provável persistência da toxicidade.

Ainda são escassos os trabalhos que avaliem a toxicidade para organismos aquáticos de efluentes resultantes de processos de produção de combustíveis nucleares. No entanto, são conhecidos os limites de tolerância para as espécies químicas presentes no efluente (Tabela 6).

O efeito agudo (CL50;48h) do urânio (U^{+6}) para *Daphnia magna* é de $7,4 \text{ mg L}^{-1}$ (ABEL, 1989). POSTON, HANF e SIMMONS (1984) reportam valores de toxicidade de urânio para *D. magna* (CL50;48h) entre $5,34$ e $7,62 \text{ mg L}^{-1}$ de U para água com dureza entre 130 e 200 mg L^{-1} de CaCO_3 . Em água com dureza 20 mg L^{-1} de CaCO_3 são reportados valores de toxicidade entre $2,8$ e $3,7 \text{ mg L}^{-1} U^{+6}$ e $135 \text{ mg L}^{-1} U^{+6}$ para água com dureza 400 mg L^{-1} de CaCO_3 (POSTON et al).

A toxicidade aguda de amônia para invertebrados aquáticos é bem conhecida. Estima-se para *Daphnia magna* valores de CL50;48h de $2,4$ a $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ em água com pH entre $7,95$ e $8,15$ e dureza de 192 a $212 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, e CL50;48h de $0,53$ a $0,90 \text{ mg L}^{-1}$ em água com pH entre $7,4$ e $7,5$ e dureza entre 42 e 48 mg L^{-1} de CaCO_3 (EPA,1986). Para *Daphnia pulicaria* é conhecido o CL50;48h de $1,16 \text{ mg L}^{-1}$ (DEGRAEVE et al, 1980).

A toxicidade do íon fluoreto para organismos aquáticos ainda é pouco estudada. Para *Daphnia magna* a concentração que causa toxicidade aguda (EC(I)50;48h) para esse íon é de 352 mg L⁻¹ (KHAN et al.,1992). Neste trabalho, foi avaliada a toxicidade da amônia para *Daphnia similis*, conforme será discutida no item posterior.

A toxicidade do efluente foi provavelmente devido à amônia, já que as concentrações de urânio nos testes foram na ordem de microgramas por litro (µg L⁻¹), muito menores que os valores encontrados na literatura, na ordem de mg L⁻¹. As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 1 e 2.

Tabela 6: Toxicidade das espécies químicas presentes no efluente de processo do Diuranato de Amônio para o gênero *Daphnia sp.*

Espécie Química	Espécie	CL(50);48h (mg L ⁻¹) CE(I)50;48h (mg L ⁻¹)*	Observações	Referência:
Amônia (NH ₃ /NH ₄ ⁺)	<i>Daphnia magna</i>	2,4 – 2,8	PH: 7,95-8,15 192 mg L ⁻¹ CaCO ₃	EPA (1986)
	<i>Daphnia pulicaria</i>	1,16	PH: 7,4 –7,5 48 mg L ⁻¹ CaCO ₃	DEGRAEVE (1980)
Fluoreto (F ⁻)	<i>Daphnia magna</i>	352,0*	-	KHAN et al,1992
	<i>Daphnia similis</i>	263,90 a 292,82	pH = 7,0 48 mg L ⁻¹ CaCO ₃	NESTE TRABALHO ABEL (1996)
Urânio	<i>Daphnia magna</i>	7,4	-	POSTON et al(1984)
		5,34 - 7,62	pH ≥ 6,0 130 e 200 mg L ⁻¹ CaCO ₃	POSTON et al(1984)
		2,8 – 3,7	pH ≥ 6,0 20 mg L ⁻¹ CaCO ₃	POSTON et al(1984)
		135,0	pH ≥ 6,0 400 mg L ⁻¹ CaCO ₃	POSTON et al(1984)

4.2.1. Toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis*

O íon fluoreto ocorre naturalmente nas águas naturais devido à dissolução de certos tipos de solo que contém minerais tais como fluorita e apatita ou através do descarte de efluentes industriais. A toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis* ainda é pouco conhecida, somente tem-se dados para *Daphnia magna* com valor de EC(I)50;48h igual a 352 mg L⁻¹ (KHAN *et al*, 1992)). Com o objetivo de estimar a faixa de concentração que causa toxicidade aguda para essa espécie, foram realizados cinco testes com fluoreto de sódio (NaF). Como água de diluição, utilizou-se água destilada reconstituída para dureza entre 40-48 mg L⁻¹ de CaCO₃. As condições para realização desses testes foram: temperatura de 20°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas-luz e intensidade luminosa de 2000lux, sendo que os organismos não foram alimentados durante o teste. Os valores do teste de toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis* (EC(I)50;48h) situaram-se entre 263,90mg L⁻¹ e 292,82 mg L⁻¹, sendo o coeficiente de variação de 5% (Figura 13 e Tabela 9).

As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 3 e 4.

Tabela 7: Valores de CE(I)50;48h, em mg L⁻¹ de fluoreto para *Daphnia similis*.

Teste n°	EC(I)50;48h (mg L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	273,21	243,54 – 306,49
2	292,82	261,02 – 328,49
3	292,82	261,02 – 328,49
4	263,90	230,96 – 301,54
5	282,84	247,54 – 323,18
CE(I)50,48h médio (g L ⁻¹)	281,12	
Faixa de toxicidade (±2σ)	263,90 a 292,82	
Desvio padrão	0,08	
Coeficiente de variação	5%	

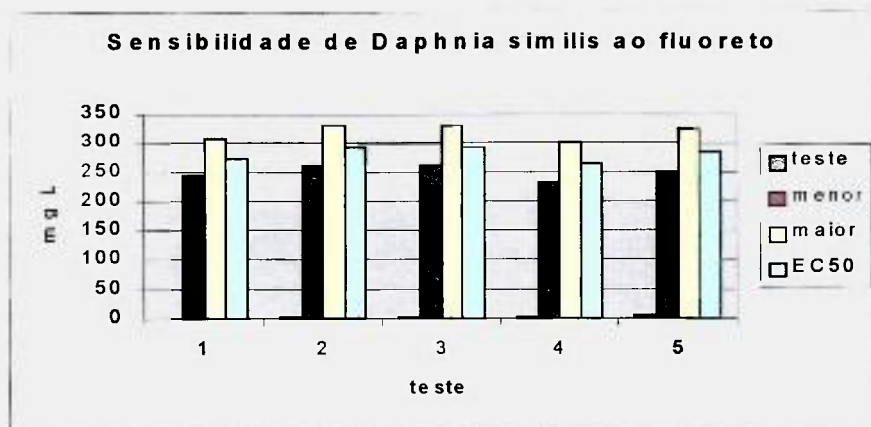


Figura 13: Toxicidade do íon fluoreto (F^-) para *Daphnia similis*.

4.3. Toxicidade aguda do efluente de diuranato de amônio para *Ceriodaphnia dubia*.

Foram efetuados três testes preliminares para determinar a menor concentração que causasse efeito agudo e a maior concentração que não causasse imobilidade para que, a partir destas fossem realizados testes crônicos, onde efeitos sobre crescimento e reprodução pudessem ser avaliados. No entanto, observou-se que até na menor concentração de efluente testada (0,006%), ocorria a morte dos organismos em período inferior a 48 horas.

Em função desses resultados, verificou-se a impossibilidade de realização de testes para avaliação da toxicidade crônica, que apresentam como duração sete dias. Deste modo optou-se por considerar os testes como agudos, pois os resultados apontam para uma elevada toxicidade do efluente.

Até o momento não foram encontrados dados a respeito da toxicidade crônica deste tipo de efluente para esse organismo.

4.4. Toxicidade aguda do efluente de diuranato de amônio para *Danio rerio*

Foram realizados cinco testes de toxicidade aguda com amostras do efluente de processo de Diuranato de Amônio (Tabela 8 e Figura 14), sendo os testes 1, 2 e 3 realizados com efluente obtido na etapa anterior ao tratamento por troca iônica (efluente 1) e os testes 4 e 5 com efluente obtido após esse tratamento (efluente 2). Os resultados mostram não haver diferença na toxicidade do efluente em ambas etapas. As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 5 e 6

Tabela 8: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio para *Danio rerio*

Teste n°	EC(I)50;48h (%)	Intervalo de Confiança
1	0,07	0,06-0,07
2	0,06	0,06-0,07
3	0,06	0,06-0,07
4*	0,06	0,06-0,07
5*	0,06	0,06-0,07
CE(I)50,48h médio (g L ⁻¹)	0,06	
Faixa de toxicidade ($\pm 2\sigma$)	0,06 a 0,07	
Desvio padrão	$2,0 \cdot 10^{-4}$	
Coefficiente de variação	0,03%	

* testes realizados com efluente após tratamento por troca iônica

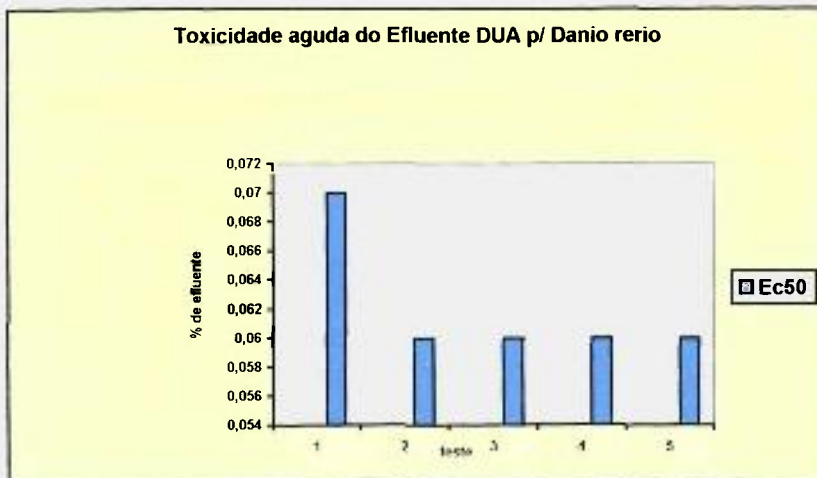


Figura 14: Toxicidade aguda do efluente de Diuranato de Amônio (IPEN/CNEN-SP) para *Danio rerio*

A toxicidade da amônia para peixes é bem conhecida. Na forma não ionizada, afeta o sistema nervoso central, causando aumento da ventilação branquial, hiperexcitabilidade e convulsão (RUSSO, 1995)(Tabela 9). Testes de toxicidade aguda com a espécie *Gambusia patruelis* demonstraram que, em águas onde ocorre cultivo de peixes, a concentração desta substância não deve ultrapassar 2 mg L^{-1} (LIANG & WONG,2000).

Tabela 9: Toxicidade da amônia para peixes de água doce.

Espécie	Referência
<i>Carassius auratus</i>	CL50;96H 0,97 a $3,80 \text{ mg L}^{-1}$ Dowden & Bennet,1965
<i>Pimephales promelas</i>	CL50;96H $0,62 \text{ mg L}^{-1}$
<i>Salmo aguabonita</i>	CL50;96H 0,52 a $0,80 \text{ mg L}^{-1}$ Thurson & Russo,1981
<i>Cyprinius carpio</i>	CL50;96H $1,1 \text{ mg L}^{-1}$ Rao et al., 1975
<i>Danio rerio</i>	CL50;168H $0,47 \text{ mg L}^{-1}$ Bertoletti, 2000

Como o aumento de pH e da temperatura (ABEL, 1996) e a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido (LLOYD, 1992) resultam o aumento da toxicidade da amônia na água, as características físico-químicas do corpo receptor do efluente são de grande importância na avaliação da toxicidade.

Nos testes realizados neste trabalho, as concentrações de amônia foram mais elevadas que as encontradas na literatura, demonstrando ser esse o provável agente responsável pela toxicidade do efluente.

A toxicidade do urânio para peixes depende da espécie e do tempo de exposição. Testes com a espécie *Coregonus cupleaformis*, em organismos expostos a várias concentrações de urânio por 10, 30 e 100 dias demonstraram que ocorre acumulação deste metal na espinha, no fígado, nos rins e intestinos (COOLEY, 2000).

São conhecidos valores de CL(50);96h de 2,8 a 3,7 mg L⁻¹ de U (20 mg L⁻¹ de CaCO₃) e 135 mg L⁻¹ de U (400 mg L⁻¹ de CaCO₃) para *P. promelas* (CRUSHMAN *et al* *apud* POSTON *et al*, 1984).

Testes de toxicidade aguda realizados com fluoreto para *Salmo trutta* (truta arco-iris) e *Oncorhynchus mykiss* (truta marrom) revelaram valores de CL50;120h iguais a 92,4 mg L⁻¹ e 135,6 mg L⁻¹, respectivamente. Os peixes durante os testes demonstraram hipoe excitabilidade, dorso escurecido e diminuição na respiração até a morte (CAMARGO & TARAZONA, 1991).

Nos métodos para testes ecotoxicológicos utilizando peixes, recomenda-se que sejam utilizados organismos de lotes homogêneos quanto ao tamanho e idade (CETESB,1997). No presente trabalho utilizou-se organismos de comprimento inferior a 3,0 cm.

Os resultados demonstram não haver alteração na toxicidade do efluente após o tratamento por troca iônica, já que as concentrações de urânio nas amostras estão abaixo dos valores que causam toxicidade observados na literatura. Dessa forma podemos concluir que a toxicidade não é causada pelo íon uranila (UO_2^{-2}).

Vários pesquisadores relatam que a alteração da sensibilidade nos organismos em relação à fase do ciclo de vida é uma importante variável que deve ser considerada (BERTOLETTI, 2000). Entretanto, quando se utilizam organismos adquiridos diretamente dos criadores ou do comércio aquarista, a determinação da idade dos peixes é muito difícil, havendo apenas a possibilidade de se adquirirem lotes com organismos de tamanho homogêneo e, ainda assim, dificilmente na aquisição seguinte, conseguir-se-á que o novo lote tenha organismos com tamanho igual ao anterior.

Nos testes realizados com o efluente de processo de diuranato de amônio, os peixes dos três lotes adquiridos apresentaram mesma sensibilidade, mesmo havendo diferença de massa e tamanho médios entre o primeiro lote e os dois lotes seguintes (Tabela 10), demonstrando que para este caso a sensibilidade não sofreu alteração em relação às variáveis citadas, provavelmente devido a alta toxicidade do efluente em estudo.

Tabela 10: Dados biométricos dos lotes de *Danio rerio* utilizados nos testes de toxicidade do efluente de processo do DUA.

LOTE 01		LOTE 02		LOTE 03	
Comprimento(mm)	Massa (g)	Comprimento(mm)	Massa (g)	Comprimento(mm)	Massa (g)
29,8	0,403	23,4	0,254	22,2	0,155
27,8	0,390	24,3	0,242	19,8	0,130
28,3	0,367	22,3	0,190	19,6	0,110
29,1	0,378	23,0	0,198	20,1	0,170
28,8	0,412	22,8	0,179	19,3	0,118
25,9	0,355	21,2	0,158	20,4	0,125
28,8	0,408	22,2	0,184	20,0	0,110
26,1	0,386	23,8	0,156	21,3	0,138
23,9	0,366	22,4	0,175	21,0	0,127
26,9	0,377	22,1	0,158	19,4	0,111
Massa média: 0,384g Comprimento médio: 27,50mm		Massa média: 0,156g Comprimento médio: 22,75mm		Massa média: 0,129g Comprimento médio: 22,29mm	

4.5. Toxicidade crônica do efluente de processo do Diuranato de Amônio para *Selenastrum capricornutum*

Foram realizados três testes de toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum*, sendo dois testes com o efluente anterior ao tratamento por troca iônica (efluente 1) e um teste com o efluente após esse tratamento (efluente 2), com objetivo de observar possíveis alterações na toxicidade (Tabela 11) (Figura 15).

Tabela 11: Crescimento algáceo médio em testes de toxicidade crônica do efluente de processo de Diuranato de Amônio para *Selenastrum capricornutum* antes e depois do tratamento por troca iônica.

Concentração	Teste 01	Teste 02	Teste 03*
Controle	$2,39 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹	$2,78 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹	$2,73 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹
0,12%	$1,75 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹	$2,19 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹	$1,26 \cdot 10^5$ cel. mL ⁻¹
0,25%	$1,40 \cdot 10^4$ cel. mL ⁻¹	$6,2 \cdot 10^3$ cel. mL ⁻¹	0
0,50%	0	0	0
1,00%	0	0	0
10,00%	0	0	0

* teste realizado com efluente após processo por troca iônica

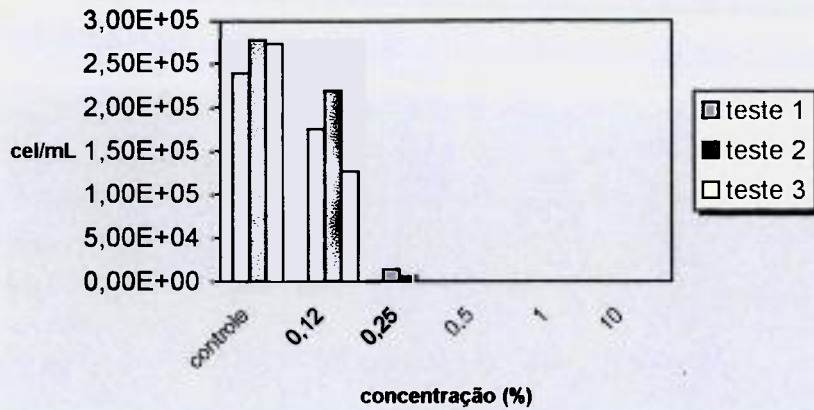


Figura 15: Crescimento de *S. Capricornutum* em testes de toxicidade crônica com efluente de processo de Diuranato de Amônio.

Observando-se as células ao microscópio, na concentração de 0,12% do efluente, verificou-se alterações no formato das células. Em concentrações maiores nota-se a ocorrência de lise nas membranas celulares, provavelmente em função de alterações de osmorregulação. Os resultados demonstram valores de CENO (concentração de efeito não observável) menores que 0,12 % do efluente e valores de CEO (concentração com efeito observável) igual ou maior que esse valor. A Tabela 12 apresenta o resultado de um dos testes realizados.

Tabela 12: Resultado do teste de Turkey de comparações múltiplas para os dados de crescimento de *Selenastrum capricornutum* observados sob diferentes concentrações do efluente DUA.

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	MÉDIA	GRUPO						
			3	4	5	6	2	1	
3	0,25%	0.000	\						
4	0,50%	0.000	.	\					
5	1,00%	0.000	.	.	\				
6	10,0%	0.000	.	.	.	\			
2	0,12%	126250.000	\		
1	CONTROLE	373500.000	*	*	*	*	*	*	\

* diferença significativa ($p = 0,05$)

. diferença não significativa

Valor de Turkey (6,18) = 4,49

s = 3866986111.109

O resultado do teste 3 efetuado com efluente obtido após o tratamento por troca iônica, demonstra que a toxicidade deste não sofre alteração.

Estudos realizados com *Chorella sorokiniana* demonstram haver absorção de amônio (NH_4^+) sob iluminação constante e adição de gás carbônico (CO_2), mas na ausência de luminosidade ou na ausência de CO_2 , o crescimento é inibido (VONA *et al.*, 1999).

Testes de toxicidade do urânio com *Chorella sp.* mostraram a inibição no crescimento em concentrações de 44 a $78\mu\text{g L}^{-1}$, na faixa de pH entre 5,7 e 6,5, provavelmente devido à competição entre H^+ e o íon uranila (UO_2^{+2}) na superfície das células (FRANKLIN *et al.*, 2000).

Os efeitos do fluoreto para algas ainda são desconhecidos.

As planilhas dos testes realizados estão demonstradas no Apêndice 7 .

4.6.Sensibilidade de *Daphnia similis*

O dicromato de potássio, por apresentar as características necessárias de uma substâncias de referência como, por exemplo, estabilidade química, tem sido utilizado para esse fim em testes de sensibilidade com peixes e invertebrados, entre eles microcrustáceos (ZAGATO, 1988; BOHRER, 1995).

Apesar de ser um micronutriente importante para o metabolismo de animais e plantas, o cromo em concentrações elevadas causa efeitos tóxicos, e sua toxicidade é

função de sua especiação química (Cr^{+3} / Cr^{+6}), como também da temperatura, dureza, salinidade e pH (BOHRER, 1995).

Realizaram-se 11 testes de sensibilidade para *Daphnia similis*, sendo estabelecida uma faixa de sensibilidade de $0,09 \text{ mg L}^{-1}$ á $0,29 \text{ mg L}^{-1}$ de dicromato de potássio (Figura 16) e (Tabela 13).

As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 9 e 10 .

Tabela 13 – Valores de CE(I)50;48h, em mg L^{-1} de dicromato de potássio para *Daphnia similis*.

Teste nº	EC(I)50;48h (mg L^{-1})	Intervalo de Confiança
1	0,09	0,08-0,11
2	0,23	0,16-0,35
3	0,15	0,13-0,18
4	0,19	0,07-0,54
5	0,29	0,16-0,55
6	0,18	0,15-0,22
7	0,15	0,13-0,18
8	0,20	0,17-0,24
9	0,13	0,11-0,15
10	0,24	0,20-0,28
11	0,20	0,12-0,34
CE(I)50;48h médio (mg L^{-1})	0,19	
Faixa de sensibilidade	0,09 a 0,29	
Desvio Padrão (DP)	0,05	
Coefficiente de variação	26%	

A faixa de sensibilidade ao dicromato de potássio para as diferentes espécies do gênero *Daphnia* varia de acordo com a espécie. Para *Daphnia magna* as faixas estabelecidas pelas normas americanas (ISO), francesas (AFNOR) e alemãs (DIN) são de 0,9 a 2,0 mg L⁻¹; de 0,9 a 1,5 mg L⁻¹ e 0,9 a 1,9 mg L⁻¹, respectivamente, para águas duras, contendo 200 a 250 mg L⁻¹ de CaCO₃. De um modo geral, a toxicidade de cromo para invertebrados varia de 0,1 a 20 mg L⁻¹ (BOHRER, 1995). Para *Daphnia similis*, a faixa de sensibilidade situa-se em torno de CE(I)50;48H (Concentração Efetiva Média) entre 0,04 e 0,17 mg L⁻¹ de dicromato de potássio (CETESB,1992), faixa um pouco abaixo daquela encontrada nesse trabalho.

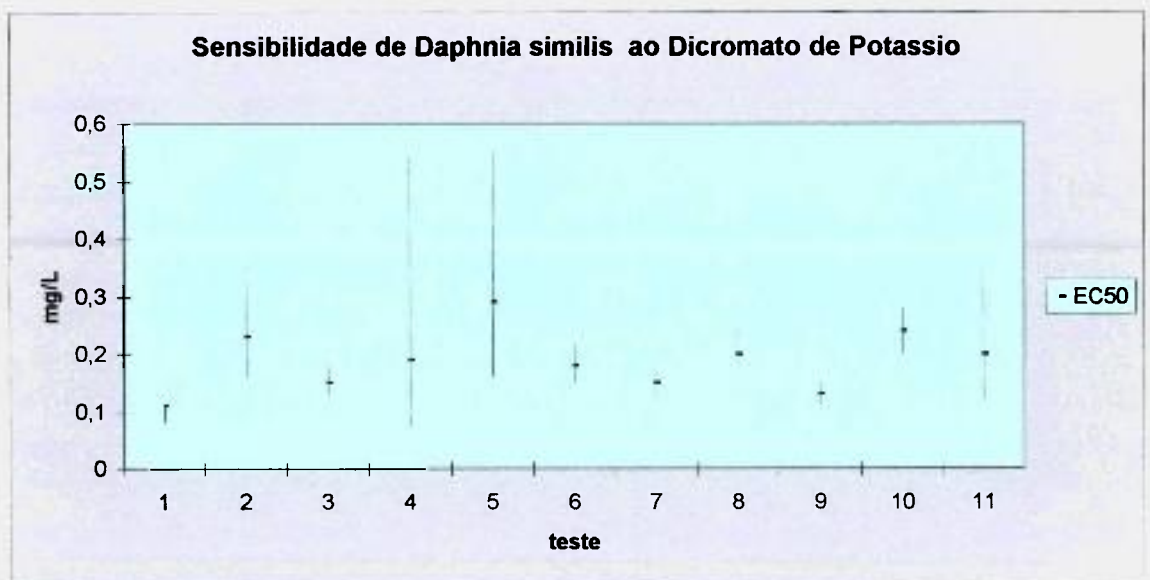


Figura 16 - Sensibilidade de *Daphnia similis* ao Dicromato de Potássio.

4.7.Sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*

Foram realizados cinco testes de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cloreto de sódio, ficando estabelecida uma faixa de sensibilidade entre 1,32 g L⁻¹ e 1,47g L⁻¹ (Figura 17 e tabela 14). As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 11 e 12.

Sabe-se que o cloreto de sódio provoca alterações na osmorregulação. Espécies de cladóceras de água doce (*Ceriodaphnia reticulata*, *Ceriodaphnia dubia*, *Bosmina longirostris*, entre outras) realizam o controle osmótico conservando sua hemolinfa hipermóstica em relação ao meio externo, reabsorvendo sais ingeridos com alimento pela glândula maxilar. Quando expostos a uma salinidade alta, morrem por não conseguirem manter o mecanismo osmótico (ALADIN, 1991).

Tabela 14 – Valores de CE(I)50;48h, em g L⁻¹ de cloreto de sódio para *Ceriodaphnia dubia*.

Teste nº	EC(I)50;48h (g L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	1,34	1,25-1,44
2	1,32	1,23-1,41
3	1,47	1,38-1,58
4	1,40	1,27-1,53
5	1,41	1,32-1,49
CE(I)50,48h médio (g L ⁻¹)	1,39	
Faixa de sensibilidade	1,32 a 1,47	
Desvio padrão	0,07	
Coefficiente de variação	5%	

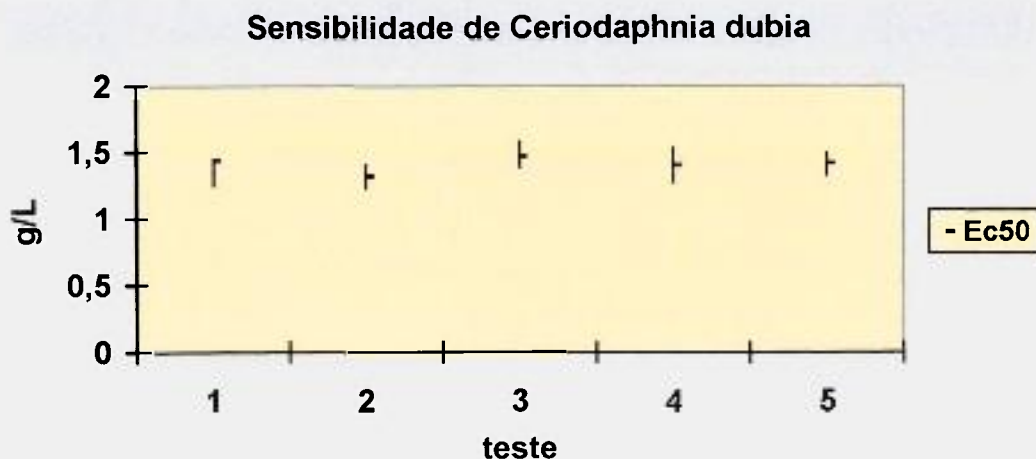


Figura 17 - Sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cloreto de sódio.

De acordo com CETESB (1992), o valor de CE(I)50;48h para *Ceriodaphnia dubia* deve situar-se em torno de $1,60 \text{ g L}^{-1}$ de cloreto de sódio, enquanto que BOHRER et al. (1994) estabeleceram, para a mesma espécie, uma faixa de $1,33$ a $1,82 \text{ g L}^{-1}$ de NaCl. Os valores estabelecidos nesse trabalho encontram-se numa faixa mais estreita de sensibilidade, ou seja, $1,25$ a $1,53 \text{ g L}^{-1}$ de NaCl.

4.8. Sensibilidade de *Danio rerio*

Foram realizados três testes de sensibilidade de *Danio rerio* com dicromato de potássio (CETESB, 1994), ficando estabelecida a faixa de sensibilidade entre $152,9$ e $208,6 \text{ mg L}^{-1}$. As planilhas e cálculos dos testes realizados são mostrados nos Apêndices 13 e 14 (Tabela 15) (Figura 18).

Tabela 15 – Valores de CE(I)50;48h, em mg L⁻¹ de dicromato de potássio para *Danio rerio*.

Teste n°	EC(I)50;48h (g l ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	182,74	152,94 – 218,36
2	180,29	155,81 – 208,62
3	173,81	150,95 – 200,12
CE(I)50,48h médio (g L⁻¹)	178,95	
Faixa de sensibilidade	173,81 a 182,74	
Desvio padrão	0,07	
Coefficiente de variação	25%	

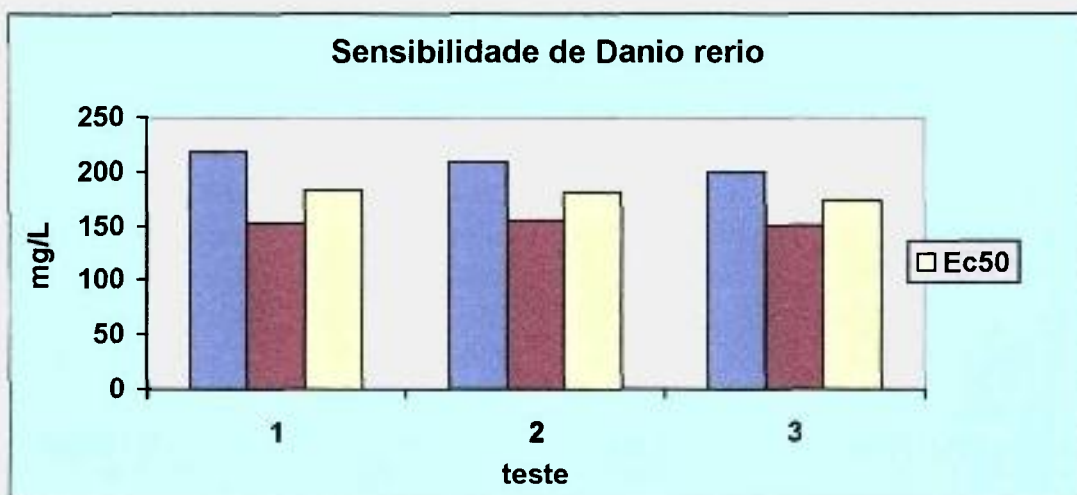


Figura 18 - Sensibilidade de *Danio rerio* ao dicromato de potássio.

São relatados valores de CE50;48h entre 52,8 mg L⁻¹ e 153,2 mg L⁻¹ de dicromato de potássio para a espécie (CETESB,1980), sendo os valores encontrados nesse trabalho aiores que essa faixa, ou seja, 152,9 á 208,0 mg L⁻¹.

5.CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos podemos concluir que:

- Os resultados dos testes de toxicidade aguda para *Daphnia similis* estimam valores de CE(I)50;48h entre 0,39% e 0,57% de concentração de efluente.
- Os testes de toxicidade aguda com *Danio rerio* revelaram valores de CE(I)50;48h entre 0,06% e 0,07% de concentração de efluente.
- Nos testes de toxicidade aguda para *Ceriodaphnia dubia* observou-se toxicidade aguda na menor concentração testada (0,006%).
- Dada a alta toxicidade do efluente, não foi possível a determinação de efeitos crônicos, ou seja, sub-letais para *Ceriodaphnia dubia*.
- Nos testes de toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum* obteve-se valores de CENO para concentrações menores que 0,12% de efluente.
- Os testes de toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis* estimam valores de CE(I)50;48h entre 263,90mg L⁻¹ e 292,82 mg L⁻¹.
- Os resultados das análises químicas e dos testes de toxicidade revelam, durante o período de armazenamento, uma toxicidade persistente, provavelmente devido a estabilidade química apresentada.
- Pelos resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com *Danio rerio* e nos testes de toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*, observou-se que o tratamento por troca iônica, embora seja eficiente na diminuição da concentração de urânio, não altera significativamente a toxicidade do efluente.
- A toxicidade observada do efluente é provavelmente devido a amônia.

- Dos organismos testados com o efluente de DUA na etapa anterior ao tratamento por troca iônica, apresentaram maior sensibilidade, na ordem: *Ceriodaphnia dubia* > *Danio rerio* > *Selenastrum capricornutum* > *Daphnia similis*.
- A melhor espécie, dos organismos utilizados, para avaliar a toxicidade do efluente de processo de Diuranato de Amônio é o *Danio rerio*, por ser a mais sensível e com CE(I)50 determinado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, P. D. **Water Pollution Biology**. 1ª edição, Ellis Horwood Limited, Chichester, 1996, 256p.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Água – Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea). Rio de Janeiro, 1993. **NBR 12713**. 16p.
- ALADIN, N.V. Salinity tolerance and morphology of the osmoregulation organs in cladocera with special reference to Cladocera from the Aral Sea. **Hidrobiologia**. **225**: 291-299. 1991.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1985), **Standar methods for the examination of water and wasterwater**. Byrd Peppress Springfield. Washington. 1985. 1134p.
- BASSOI, L.J., NIETO, R., TREMAROLI, D. **Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB, 1990. Séries Manuais. 7p.
- BERTOLETTI, E. **Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com *Danio rerio*(Pisces, Cyprinidae)**. São Paulo, 2000. Tese (Doutorado em Saúde Pública), Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2000. 118p.
- BERTOLETTI, E.; GHERALDI-GOLDSTEIN, E.; ZAGATTO, P.A. **Variabilidade de testes de toxicidade com peixe**. Ambiente, São Paulo, 1989, v.3, n.1, p. 52.58.
- BOHRER, M.B.C. **Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciários dos efluentes líquidos industriais (SITEL) do Pólo Petroquímico do Sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplanctônica**. São Carlos, UFSCar, 1995. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), Departamemnto de Ciências, Universidade Federal de São Carlos, 1995. 470p.

BRAILE, P. M. **Manual de tratamento de águas residuárias e industriais** São Paulo. Cetesb, 1979.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Decreto 1469**, 29 de dezembro de 2000.

BROWN, S.L. Harmonizing Chemical and Radiation Risk Management, **Environ. Sci Technol.**, v. 26, 1992. p. 12.

CAMARGO, J.A.; TARAZONA, J.V. Short-term toxicity of fluoride-ion (F⁻) to Rainbow-trout and Brown trout. **Chemosphere** 22: (5-6) 605-611. 1991.

CETESB. **Métodos para avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos.** São Paulo. 1997. vol. 2.

CETESB. **Efeitos das regras operacionais no Tietê Alto – Zona Metropolitana, no Tietê Médio – Superior e no Reservatório Billings.** São Paulo. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. 1994. (Informe nº 8, de 08/09/94).

CETESB. **Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos.** São Paulo: CETESB, 1992. 74p.

CETESB. Água – Testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea). São Paulo: CETESB, 1991a. 28p. **Norma Técnica L5 018.**

CETESB. Água – Avaliação da toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). São Paulo: CETESB, 1991b. 25p. **Norma Técnica L5 022.**

CETESB. **Programa bioensaios.** Relatório de atividades. São Paulo. 1980. 55p.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR (CNEN) **Gerência de Rejeitos Radioativos em Instalações Radioativas**. 1985. (CNEN-NE-6.05-85).

COOLEY, H.M.; KLAVERKAMP, J.F. Accumulation and distribution of dietary uranium in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). **ScienceDirect**; Amsterdã. 2000. 48(4) 477-494p.

COONEY, J.D. **Effects – Toxicity Testing** In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (eds.) **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p. 31 -57.

COTRIM M.E.B; CARVALHO, E.F.U.; GOMES, R.P.G.; TERAZAM, M.^ªS. Desenvolvimento do processo de preparação de diuranato de amônio em soluções provenientes da hidrólise do hexafluoreto de urânio. **V Congresso Geral de Energia Nuclear**, v. II, 1994. , p. 505-507.

CUSHMAN, R.M.; HILDEBRAND, S.G.; STRAND, R.H. e ANDERSON, R.M. **Toxicity of 35 trace elements in coal to freshwater biota**. ORNL/TM-35793, TENESSE. 1977 *apud* POSTON, T. M.; HANF, R.W.; SIMMONS, M. A. **Toxicity of uranium to *Daphnia magna***. *Water, Air and Soil Pollution*. n.22 .1984. 289-298p.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO (D.O.U.). **Resolução CONAMA nº 20**, de 18 de junho de 1986 (publicada em 30 de julho de 1986).

EPA - U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Quality Criteria for Water**. Washington DC: EPA, 1986. EPA – 440/5-86/001

EPA - U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 4.ed. Cincinnati, OH : EPA, 1989. EPA – 600/4-89/001.250p.

EPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.** 4.ed. Washington, D.C.: EPA, 1991. EPA - 600/4 - 90/027. 293 p.

EPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organism.** 3. ed. Washington D.C. : EPA, 1994. EPA 600-4-91-002. 341p.

FALCÃO, L.; BOHRER, M.B.C.; MONTEIRO, N. **Manual de Procedimentos para Testes de Toxicidade com Organismos de Água Doce.** 204p. PETROBRAS/UFRGS. 1996. (no prelo).

FEEMA. Apostila de bioensaio. In: **Análises biológicas da água.** Rio de Janeiro, v. 2, 1983.

FELLENBERG, G. **Introdução aos problemas da poluição ambiental.** São Paulo. EPU - Editora da Universidade de São Paulo, 1990. 196p.

FRANÇA, Jr. **Usina piloto de purificação de urânio pelo processo de colunas pulsadas em operação no Instituto de Energia Atômica, IEA-277, 1972.** 173p.

FRANJNDLICH, E.U. de C. **Estudo Sobre Tratamento Químico da Solução de Fluoreto de Amônio Proveniente da Unidade de Reconversão de Urânio.** São Paulo. 1992. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN, 1992. 270p.

FRANKLIN, N.M.; STAUBER, J.L.; AMRKICH, S.J. Ph-dependent toxicity of copper and uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*). **Aquatic Toxicology**. Amsterdam. 2000. 48 (2-3) : 275-289.

GOULD, R. W. Toxicity changes of stored oil refinery effluents. **Journal WPCF.**, v. 23, n. 10, 1961. 1107p

GULLEY, D.D.; BOELTER, A.M.; BERGMAN, H.L. **TOXTAT 3.3 Computer Program.**, 1991.

GHERRARD-GOLDSTEIN, E.G. Testes de Toxicidade de Efluentes Industriais. **Revista Ambiente**. São Paulo, v. 2, n. 1, p. 33-38, 1988.

HAMILTON, M.A; RUSSO, R.C.; THURTON, R.V. Trimed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, New York, v. 11, n. 7, 1977. p. 714-719.

IBAMA. **Manual de testes para a avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos**. Ministério do Interior. Secretaria Especial do Meio Ambiente. Secretaria de Tecnologia e Controle Ambiental. Coordenadoria de Toxicologia Ambiental. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis. Brasília. 1990. 351p.

IPEN. **Relatório Preliminar de Informações Técnicas- Laboratório de Combustíveis Nucleares (LCN)**. São Paulo. jun/ 2000.

IPEN-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. **Determinação de ânions Cloreto e Fluoreto em Compostos de Urânio por Eletrodos Seletivos de Íons**. São Paulo. [s.d.]. (Procedimento IPEN QI-049). 10p.

IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. **Determinação de urânio em efluentes de tricarbonato de amônio e urânio por voltametria de gota pendente de mercúrio**. São Paulo, [s.d.]. (Procedimento IPEN QI-056). 4p.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.
Determination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Première édition, ISO 6341 – Qualité des Eaux. Paris 1982. 9p.

KHAN, A.; KENT, D.; BARBIERI, J.; KHAN, S. Chronic toxicity of a fluoride mixture to freshwater organisms. **Water Science and Technology** . 1991. 26: (9-11) 2353-2356.

KATSUOKA, L. **Agentes complexantes no controle analítico de traços de fluoreto por eletrodo íon-seletivo.** São Paulo. 1996.. Tese (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN, 1996. 148p.

LAINETTI, P. E. O. **Desenvolvimento do processo de produção de pós de UO₂, a partir de nitrato de urânio, via atomização.** São Paulo, 1991. Tese (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN, 1991. 168p.

LEWIS, M.A. **Freshwater primary procedures.** In: CALOW, P. Handbook of Ecotoxicology, V. 1. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993.

LIANG, Y.; WONG, M.H. Reclamation of wastewater for polyculture of freshwater fish: Bioassays using *Chorella* and *Gambusia*. **Environmental Contamination and Toxicology**. 2000. 39: (4) 506-514.

LLOYD, R. **Pollution and freshwater fish.** Victoria. : Fishing News Book, 1992. 175p.

MATSUI, S., Movement of toxic substance through bioaccumulation. In: *Guidelines of lake Management: vol. 4, Toxic substances management in lakes and reservoirs.* ILEC, UNEP, Otsu, p. 27-42.

MONTEIRO, N. J. C. **Estudos da Toxicidade de *Microcystis aeruginosa* RST9501 da Lagoa dos Patos Sobre Cladóceras Como Subsídio ao Monitoramento Ambiental.** Porto Alegre. 2001. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Instituto de Biociências. UFRS. 2001. 178p.

NARDOCCI, A.C. **Critérios de segurança de instalações de enriquecimento de urânio.** V Congresso Geral de Energia Nuclear, Proceedings, v. II, , 1994 . p. 547-551.

NIOSH, 1988 - **American conference of governmental industrial hygienists.** Theshold Limits Values and biological exposure Indices for 1989-1990. 112p.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. 1976. **Directive 76/464/EEC**, de 04 de maio de 1976 (publicada em 18/05/1976).

OGA, S., **Fundamentos da Toxicologia.** Atheneu. São Paulo. 1996. 515p.

PARRISH, P.R. **Acute toxicity tests.** In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (eds.) **Fundamentals of aquatic toxicology.** Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p. 31 -57.

PIRES, M^a. Ap. F. **Aplicação da cromatografia de íons no controle de materiais de interesse nuclear.** São Paulo,1989. Tese (Doutorado em Química), Departamento de Química. Universidade de São Paulo 1989. 251p.

POSTON, T. M.; HANF, R.W.;SIMMONS, M. A. **Toxicity of uranium to *Daphnia magna*.** Water, Air and Soil Pollution. n.22 .1984. 289-298p

PRINTES, L. B., **Biomonitoramento da micro-região carbonífera do baixo Jacuí, RS, através de testes de toxicidade com cladóceras e implantação de cultivo e definição da faixa de sensibilidade de *Hyaella azteca* (crustácea: amphipoda) ao cloreto de sódio (NaCl).** 1996. Porto Alegre, RS. 253p. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology.** Hemisphere Publishing Corporation. Princeton. 1985. 666p.

RUSSO, R. C. Ammonia, nitrite and nitrate. In: Rand, G. M. e Perocelli, S. R.(eds) **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington. Hemisphere Public. P.455-471, 1985.

SANTOS,L.R. **Unidade piloto de obtenção de tricarbonato de amônio e uranilo**. São Paulo.1989. Tese (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN,1989. 104p.

SETAC. Society of Environmental Toxicology and Chemistry - USA. **Whole effluent toxicity testing: an evaluation of methods and prediction of receiving system impacts**. Ed. GROTHE, D. R. et al. SETAC, 1995. 346p.

SETAC – Society of Environmental Toxicology and Chemistry. (2001). SETACWHOLE EFFLUENT TOXICITY TESTS EXPERTS ADVISORY PANELS. Pensacola. Disponível em : <<http://www.setac.org/wetindex.html>. > Acesso: 5 abr. 2001.

STUMM, W. & MORGAN, J.J., **Aquatic Chemistry**. 3rd Edition. Wiley Interscience, New York. 1996. 1024pp.

USEPA. **Permit writer's guide to water quality based permitting for toxic pollutants**. Washington . D.C., EPA, 1986. 53p.

VONA, V.; RIGANO, V.D.; ESPOSITO, S.; CAROLLO, P.; CARFAGNA,S.; RIGANO,C. Growth, photosynthesis, and respiration of *Chorella sorokiniana* after N-starvation. Interactions between light, CO₂ and NH₄⁺ supply. **Physiologia Plantarum**. 1999. 105: (2) 288-293.

ZAGATTO, P. A., Sensibilidade de *Daphnia similis*: controle e qualidade de culturas. 1988. **Ambiente**, 22: 79-83.

Apêndice 1: Planilhas de registro de dados dos testes de toxicidade aguda do Efluente de Processo do Diuranato de Amônio para *Daphnia similis*.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

Início do teste: 23/05/00				Final do teste: 25/05/00			teste 01	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra			
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	Lote	
08	6,99	8,26	158,2		IPEN	DUA	1	

Concentração %	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	1	1	5	6,99	7,20	8,26	8,12
0,1	0	0	0	1	1	5	7,36	7,46	8,23	8,02
0,2	0	0	1	0	1	5	7,99	8,23	8,02	7,65
0,4	0	0	1	0	1	5	8,26	8,30	7,96	7,40
0,8	5	5	5	5	19	95	8,62	8,71	8,12	7,97
1,2	5	5	5	5	20	100	8,83	8,87	8,06	7,89

Resultado: CE(L)50; 48h = 0,57

Início do teste: 16/06/2000				Final do teste: 18/06/2000				teste 02	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra				
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	Lote		
08	7,01	8,10	177,7		IPEN	DUA	01		

Concentração	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	7,01	7,21	8,10	7,95
0,10	1	0	0	1	2	10	7,38	7,60	7,99	7,70
0,20	1	2	1	0	4	20	7,67	7,77	8,06	7,90
0,40	1	2	1	1	4	20	7,96	8,12	8,03	7,87
0,80	3	4	5	4	16	80	8,32	8,55	7,99	7,70
1,20	5	5	5	5	20	100	8,52	8,61	8,06	7,90

Resultado: CE(L)50; 48h = 0,50

Início do teste: 20/07/00				Final do teste: 22/07/00			teste 03		
Água de cultivo e/ou de diluição						Amostra			
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)			Origem	Tipo	Lote	
08	7,04	8,12	132,1			IPEN	DUA	1	

Concentração %	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	7,04	7,18	8,16	7,94
0,10	0	0	0	0	0	0	7,18	7,33	8,01	7,84
0,20	1	0	1	0	2	10	7,30	7,38	7,99	7,61
0,40	1	2	2	3	8	40	7,88	7,95	8,03	7,87
0,80	5	5	5	5	20	100	8,30	8,50	8,00	7,62
1,20	5	5	5	5	20	100	8,78	8,96	7,93	7,65

Resultado: CE(I)50; 48h = 0,40

Início do teste: 14/07/00				Final do teste: 16/07/00			teste 04		
Água de cultivo e/ou de diluição						Amostra			
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)			Origem	Tipo	Lote	
09	7,01	8,01	163			IPEN	DUA	1	

Concentração %	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	7,01	7,34	8,01	7,94
0,1	1	1	0	0	2	10	7,12	7,38	7,97	7,54
0,2	1	1	1	0	3	15	8,06	7,65	8,03	7,61
0,4	0	4	3	2	9	45	8,53	8,70	7,90	7,76
0,8	5	5	5	5	20	100	8,87	9,01	7,91	7,44
1,2	5	5	5	5	20	100	8,97	9,26	7,99	7,68

Resultado: CE(I)50; 48h: 0,39

Início do teste: 20/09/2000 Término: 22/09/2000 teste 05						
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra		
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)	Origem	Tipo	Lote
9	7,00	8,17	189,3	IPEN	DUA	1

Concentração	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	7,00	7,42	8,01	8,21
0,10	1	0	0	0	1	5	7,08	7,20	8,01	8,21
0,20	1	1	0	1	3	15	7,36	7,44	7,98	8,00
0,40	2	2	1	2	7	35	7,67	7,83	8,06	8,00
0,80	4	5	4	5	18	90	8,06	8,32	8,04	8,12
1,20	5	5	5	5	20	100	8,45	8,66	7,94	8,09

Resultado: CE(I)50;24h ou 48h =0,43

RIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

OR REFERENCE, CITE:

AMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
RIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
ETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 140700
CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 03

DURATION: 48 H
SPECIES: DAPH

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.10	0.20	0.40	0.80	1.20
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	2	3	9	20	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	10.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.39
95% LOWER CONFIDENCE: 0.30
95% UPPER CONFIDENCE: 0.49

RIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

OR REFERENCE, CITE:

AMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
RIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
ETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 200700
CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 04

DURATION: 48 H
SPECIES: DAPH

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.10	0.20	0.40	0.80	1.20
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	2	8	20	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.40
95% LOWER CONFIDENCE: 0.33
95% UPPER CONFIDENCE: 0.49

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 200900
 CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 05

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.10	0.20	0.40	0.80	1.20
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	1	3	7	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	0.43
	95% LOWER CONFIDENCE:	0.34
	95% UPPER CONFIDENCE:	0.53

Apêndice 3: Planilhas de registro de dados dos testes de toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis*.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade aguda para *Daphnia similis*

Início do teste:27/02/2001				Final do teste:01/03/2001		teste 01	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra		
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	
14	7,03	8,01	211,0		IPEN	F	

Concentração mg L ⁻¹	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	1	0	0	0	2	10	7,03	7,19	8,01	7,81
50	0	0	0	0	0	0	7,30	7,51	8,01	7,81
100	0	0	0	0	0	0	7,39	7,59	8,01	7,81
200	0	0	2	0	2	10	7,55	7,68	8,01	7,81
400	5	5	5	4	19	95	7,61	7,80	8,01	7,81
800	5	5	5	5	20	100	7,82	7,91	8,01	7,81

Resultado: CE(I)50; 48h =273,21
Intervalo de confiança 95%: (243,54 - 306,49)

Início do teste:06/03/2001				Final do teste:08/03/2001		teste 02	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra		
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	
15	7,06	7,95	226,0		IPEN	F	

Concentração mg L ⁻¹	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	2	0	2	10	7,06	7,23	8,01	7,66
50	0	0	0	0	0	0	7,32	7,40	8,01	7,66
100	0	0	0	0	0	0	7,40	7,55	8,01	7,66
200	1	0	0	0	1	5	7,59	7,69	8,01	7,66
400	4	5	4	5	18	90	7,68	7,82	8,01	7,66
800	5	5	5	5	20	100	7,79	7,99	8,01	7,66

Resultado: CE(I)50; 48h =292,82
Intervalo de confiança 95%: (261,02 - 328,49)

Início do teste: 20/03/2001				Final do teste: 22/03/2001		teste 03	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra		
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	
15	7,00	8,01	214,0		IPEN	F	

Concentração mg L^{-1}	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	0	0	0	0	7,00	7,14	8,01	7,66
50	0	0	0	0	0	0	7,40	7,47	8,01	7,66
100	0	0	0	0	0	0	7,49	7,54	8,01	7,66
200	1	0	0	0	1	5	7,66	7,80	8,01	7,66
400	4	5	4	5	18	90	7,77	7,91	8,01	7,66
800	5	5	5	5	20	100	7,81	7,88	8,01	7,66

Resultado: CE(I)50; 48h = 292,82
Intervalo de confiança 95%: (261,02 - 328,49)

Início do teste: 10/04/2001				Final do teste: 12/04/2001		teste 04	
Água de cultivo e/ou de diluição					Amostra		
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_{25}/\text{cm}$)		Origem	Tipo	
15	7,01	7,90	223,0		IPEN	F	

Concentração mg L^{-1}	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	0	0	0	7,01	7,16	7,9	7,0
50	0	0	0	0	0	0	7,35	7,43	7,9	7,0
100	0	1	0	0	1	5	7,50	7,58	7,9	7,0
200	0	1	0	1	2	10	7,63	7,66	7,9	7,0
400	4	5	5	5	19	95	7,74	7,76	7,9	7,0
800	5	5	5	5	20	100	7,86	7,79	7,9	7,0

Resultado: CE(I)50 48h = 263,90
Intervalo de confiança 95%: (230,96 - 301,4)

Início do teste: 07/05/2001 Final do teste: 09/05/2001 teste 05					
Água de cultivo e/ou de diluição				Amostra	
Lote	pH	OD (mg/l)	Condutividade ($\mu\text{S}_25/\text{cm}$)	Origem	Tipo
16	7,03	8,12	221,0	IPEN	F ⁻

Concentração mg L^{-1}	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
Controle	0	0	1	0	1	5	7,03	7,24	8,12	7,33
50	0	0	0	0	0	0	7,40	7,47	8,12	7,33
100	0	1	0	0	1	5	7,49	7,54	8,12	7,33
200	1	0	0	0	1	5	7,66	7,80	8,12	7,33
400	4	5	4	5	18	90	7,77	7,91	8,12	7,33
800	5	5	5	5	20	100	7,81	7,88	8,12	7,33
Resultado: CE(I)50;48h = 282,84										
Intervalo de confiança 95%: (247,54 - 323,18)										

Apêndice 4: Cálculo de CE(1)50;24 para os testes de toxicidade aguda do íon fluoreto para *Daphnia similis*.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 27.02.01 . TEST NUMBER: 01 DURATION: 48 H
CHEMICAL: fluoreto SPECIES: D. similis

RAW DATA:

CONCENTRATION(mg/L)	50.00	100.00	200.00	400.00	800.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	2	19	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 273.21
95% LOWER CONFIDENCE: 243.54
95% UPPER CONFIDENCE: 306.49

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 06.03.01 TEST NUMBER: 02 DURATION: 48 H
CHEMICAL: fluoreto SPECIES: D.similisi

RAW DATA:

CONCENTRATION(mg/L)	50.00	100.00	200.00	400.00	800.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	1	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 292.82
95% LOWER CONFIDENCE: 261.02
95% UPPER CONFIDENCE: 328.49

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 20.03.01
 CHEMICAL: fluoreto

TEST NUMBER: 03

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. similis

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	400.00	800.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	1	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 292.82
 95% LOWER CONFIDENCE: 261.02
 95% UPPER CONFIDENCE: 328.49

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 10.04.01
 CHEMICAL: fluoreto

TEST NUMBER: 04

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. similis

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	400.00	800.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	1	2	19	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 263.90
 95% LOWER CONFIDENCE: 230.96
 95% UPPER CONFIDENCE: 301.54

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 07.05.20
 CHEMICAL: FLUORETO

TEST NUMBER: 05

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. SIMILI

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	400.00	800.00
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	1	1	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	282.84
	95% LOWER CONFIDENCE:	247.54
	95% UPPER CONFIDENCE:	323.18

Apêndice 5: Planilhas de dados dos testes de toxicidade aguda do Efluente de Processo do Diuranato de Amônio para *Danio rerio*.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de Toxicidade Aguda para *Danio rerio*.

Início do teste		Final do teste		Responsável	
Data:07/05/01	Hora:9:00	Data:09/05/01	Hora:9:30	Silvio	01

Concentração da Amostra	Observações	Período de observações (h)					Média
		0	3	6	24	48	
CONTROLE	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	112,7	-	-	113,8	112,9	113,1
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,01	-	-	6,83	6,57	6,8
	5. OD (mg L^{-1})	7,45	-	-	-	6,62	7,03
	6. Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	42	-	-	-	-	-
Concentração 1 0,03%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	212,1	-	-	-	219,4	215,7
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,7	-	-	7,4	7,4	7,5
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	6,9	7,2
Concentração 2 0,04%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	230,0	-	-	-	227,5	228,7
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,9	-	-	7,8	7,9	7,9
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	6,4	6,9
Concentração 3 0,06%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	261	-	-	-	252	256
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,0	-	-	7,8	7,8	7,4
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	6,20	6,82
Concentração 4 0,08%	1. N° peixes mortos	0	14	14	14	14	14
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	286	-	-	-	288	287
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,2	-	-	8,0	8,0	8,0
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	5,9	6,7
Concentração 5 0,10%	1. N° peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	313	-	-	-	302	307
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,4	-	-	8,0	8,0	8,1
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	5,7	6,6

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de Toxicidade Aguda para *Danio rerio*.

Início do teste		Final do teste		Responsável	
Data: 14/05/01	Hora: 9:30	Data: 16/05/01	Hora: 9:30	Silvio	02

Concentração da Amostra	Observações	Período de observações (h)					Média
		0	3	6	24	48	
CONTROLE	1. Nº peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	107	-	-	107	106	106,6
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,1	-	-	6,8	6,6	6,8
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	6,2	7,0
	6. Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$)	40	-	-	-	-	-
Concentração 1 0,03%	1. Nº peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	185,3	-	-	-	190,7	188
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,6	-	-	7,6	7,5	7,6
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	7,0	7,4
	5. OD (mg L^{-1})	0	3	6	24	48	-
Concentração 2 0,04%	1. Nº peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	230	-	-	-	227	228
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,9	-	-	7,8	7,7	7,8
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	6,8	7,3
	5. OD (mg L^{-1})	0	3	6	24	48	-
Concentração 3 0,06%	1. Nº peixes mortos	0	2	2	2	2	2
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	242	-	-	-	238	240
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,1	-	-	8,0	7,8	8,0
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	5,9	6,8
	5. OD (mg L^{-1})	0	15	15	15	15	15
Concentração 4 0,08%	1. Nº peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	302	-	-	-	296	299
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,3	-	-	8,1	7,9	8,1
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	6,2	7,0
	5. OD (mg L^{-1})	0	15	15	15	15	15
Concentração 5 0,10%	1. Nº peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	317	-	-	-	309	307
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,5	-	-	8,3	8,1	8,3
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	5,9	6,8
	5. OD (mg L^{-1})	0	15	15	15	15	15

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de Toxicidade Aguda para *Danio rerio*.

Início do teste		Final do teste		Responsável	
Data: 17/05/01	Hora: 9:00	Data: 19/05/01	Hora: 9:00	Sílvio	03

Concentração da Amostra	Observações	Período de observações (h)					Média
		0	3	6	24	48	
CONTROLE	1. Nº peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	112	-	-	110	111	111
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,0	-	-	6,8	6,7	6,8
	5. OD (mg L^{-1})	7,6	-	-	-	6,0	6,8
	6. Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$)	44	-	-	-	-	-
Concentração 1 0,03%	1. Nº peixes mortos	0	1	1	1	1	1
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	188	-	-	-	192	190
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,5	-	-	7,3	7,4	7,4
	5. OD (mg L^{-1})	7,7	-	-	-	6,7	7,3
	Concentração 2 0,04%	1. Nº peixes mortos	0	0	0	0	0
2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)		238	-	-	-	233	235
3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)		25	25	25	25	25	25
4. pH		7,7	-	-	7,6	7,5	7,6
5. OD (mg L^{-1})		7,7	-	-	-	6,9	7,4
Concentração 3 0,06%		1. Nº peixes mortos	0	2	2	2	2
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	242	-	-	-	238	240
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,1	-	-	8,0	7,8	8,0
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	5,9	6,8
	Concentração 4 0,08%	1. Nº peixes mortos	0	14	14	14	14
2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)		296	-	-	-	300	298
3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)		25	25	25	25	25	25
4. pH		8,2	-	-	8,1	7,7	8,0
5. OD (mg L^{-1})		7,8	-	-	-	6,8	7,4
Concentração 5 0,10%		1. Nº peixes mortos	0	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	328	-	-	-	323	325
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,5	-	-	8,5	8,0	8,3
	5. OD (mg L^{-1})	7,8	-	-	-	6,0	6,9

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de Toxicidade Aguda para *Danio rerio*.

Início do teste		Final do teste		Responsável	
Data: 21/05/01	Hora: 9:00	Data: 23/05/01	Hora: 9:00	Sílvio	04

Concentração da Amostra	Observações	Período de observações (h)					Média
		0	1	6	24	48	
CONTROLE	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	121	-	-	118	120	120
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,1	-	-	6,9	6,6	6,9
	5. OD (mg L^{-1})	7,4	-	-	-	6,2	6,8
	6. Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	44	-	-	-	-	-
Concentração 1 0,03%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	192	-	-	-	190	191
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,4	-	-	7,2	7,2	7,2
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,2	6,9
Concentração 2 0,04%	1. N° peixes mortos	0	2	2	2	2	2
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	240	-	-	-	240	240
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,7	-	-	7,5	7,4	7,5
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,2	7,0
Concentração 3 0,06%	1. N° peixes mortos	0	2	2	2	2	2
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	251	-	-	-	249	250
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,2	-	-	8,1	7,9	8,1
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	5,9	6,8
Concentração 4 0,08%	1. N° peixes mortos	0	14	14	14	14	14
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	296	-	-	-	300	298
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,2	-	-	8,1	7,7	8,0
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,4	7,2
Concentração 5 0,10%	1. N° peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	327	-	-	-	324	325
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,6	-	-	8,5	8,0	8,3
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,5	7,2

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de Toxicidade Aguda para *Danio rerio*.

Início do teste		Final do teste		Responsável	
Data: 24/05/01	Hora: 9:00	Data: 26/05/01	Hora: 9:00	Sílvio	05

Concentração da Amostra	Observações	Período de observações (h)					Média
		0	3	6	24	48	
CONTROLE	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	120	-	-	120	120	120
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,0	-	-	7,0	6,8	6,9
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,0	6,8
	6. Dureza ($\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$)	44	-	-	-	-	-
Concentração 1 0,03%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	190	-	-	-	188	189
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,4	-	-	7,0	7,0	7,1
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	6,0	6,9
Concentração 2 0,04%	1. N° peixes mortos	0	0	0	0	0	0
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	234	-	-	-	230	232
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	7,7	-	-	7,4	7,0	7,4
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	5,9	6,9
Concentração 3 0,06%	1. N° peixes mortos	0	1	1	1	1	1
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	259	-	-	-	257	258
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,2	-	-	8,0	7,8	8,0
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	5,8	6,7
Concentração 4 0,08%	1. N° peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	300	-	-	-	300	300
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,4	-	-	8,3	8,0	8,2
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	7,2	7,5
Concentração 5 0,10%	1. N° peixes mortos	0	15	15	15	15	15
	2. Condutividade ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	332	-	-	-	330	331
	3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	25	25	25	25	25	25
	4. pH	8,8	-	-	8,6	8,2	8,5
	5. OD (mg L^{-1})	7,9	-	-	-	7,0	7,5

Apêndice 6: Cálculo de CE(1)50;48h para os testes de toxicidade aguda do Efluente de Processo do Diuranato de Amônio para *Danio rerio*.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

AMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 07.05.20
CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 01

DURATION: 48 H
SPECIES: D. RERIO

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	0	0	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.07
95% LOWER CONFIDENCE: 0.06
95% UPPER CONFIDENCE: 0.07

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

AMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 14.05.20
CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 02

DURATION: 48 H
SPECIES: D. RERIO

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	0	2	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.06
95% LOWER CONFIDENCE: 0.06
95% UPPER CONFIDENCE: 0.07

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 17.05.20
 CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 03

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. RERIO

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	1	0	2	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	3.33%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.06
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.06
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.07

NOTE: MORTALITY PROPORTIONS WERE NOT MONOTONICALLY INCREASING.
 ADJUSTMENTS WERE MADE PRIOR TO SPEARMAN-KARBER ESTIMATION.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 19.05.20
 CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 04

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. RERIO

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	2	2	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.06
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.06
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.07

IMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

AMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 ETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 22.05.20
 CHEMICAL: DUA

TEST NUMBER: 05

DURATION: 48 H
 SPECIES: D. RERIO

RAW DATA:

CONCENTRATION(%)	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	0	1	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	0.06
	95% LOWER CONFIDENCE:	0.06
	95% UPPER CONFIDENCE:	0.07

Apêndice 7: Planilhas de dados dos testes de toxicidade crônica do Efluente de processo do Diuranato de Amônio para *Selenastrum capricornutum*.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum*

Início do teste 01	Final do teste	Amostra			Concentração inicial da alga (céls/ml)
		Origem	Tipo	Lote	
21/05/2001	25/05/2001	IPEN	DUA	-	1.10^5

Concentração da Amostra	Réplica	Concentração inicial da alga (Ci)	Concentração. final da alga (Cf)
Controle	1	$8,2.10^4$	$3,8.10^5$
	2	$9,0.10^4$	$2,2.10^5$
	3	$7,9.10^4$	$2,8.10^5$
	4	$8,0.10^4$	$4,1.10^5$
0,12%	1	$1,0.10^5$	$2,0.10^5$
	2	$9,8.10^4$	$2,5.10^5$
	3	$8,8.10^4$	$3,0.10^5$
	4	$9,2.10^4$	$3,3.10^5$
0,25%	1	$1,0.10^5$	$1,0.10^5$
	2	$1,0.10^5$	$1,2.10^5$
	3	$9,9.10^4$	$2,9.10^4$
	4	$8,4.10^4$	$1,2.10^5$
0,50%	1	$1,6.10^5$	$1,0.10^5$
	2	$7,2.10^4$	$3,0.10^4$
	3	$1,1.10^5$	$2,3.10^4$
	4	$8,2.10^4$	$3,1.10^4$
1,00%	1	$1,9.10^5$	$5,0.10^3$
	2	$1,5.10^5$	$2,4.10^3$
	3	$9,0.10^4$	$7,0.10^3$
	4	$1,0.10^5$	$2,0.10^3$
10,0%	1	$1,0.10^5$	0
	2	$9,0.10^4$	0
	3	$1,0.10^5$	0
	4	$8,9.10^4$	0

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum*

Início do teste 02	Final do teste	Amostra			Concentração inicial da alga (cél/ml)
		Origem	Tipo	Lote	
04/06/2001	08/06/2001	IPEN	DUA	-	1.10^5

Concentração da Amostra	Réplica	Concentração inicial da alga (Ci)	Concentração. final da alga (Cf)
Controle	1	$9,50.10^4$	$4,80.10^3$
	2	$9,00.10^4$	$1,75.10^3$
	3	$9,00.10^4$	$5,30.10^3$
	4	$1,65.10^5$	$3,70.10^3$
0,12%	1	$1,00.10^4$	$1,50.10^3$
	2	$1,60.10^5$	$3,40.10^3$
	3	$1,35.10^5$	$5,00.10^3$
	4	$4,50.10^4$	$1,15.10^3$
0,25%	1	$1,40.10^5$	$5,50.10^4$
	2	$1,55.10^5$	$6,00.10^4$
	3	$1,20.10^5$	$6,00.10^4$
	4	$9,50.10^4$	$1,20.10^3$
0,50%	1	$5,50.10^4$	$6,50.10^4$
	2	$9,50.10^4$	$6,50.10^4$
	3	$1,40.10^5$	$2,00.10^4$
	4	$1,10.10^5$	$1,05.10^3$
1,00%	1	$1,40.10^5$	$3,50.10^3$
	2	$1,55.10^5$	$5,00.10^3$
	3	$1,20.10^5$	$1,50.10^4$
	4	$9,50.10^4$	$2,00.10^3$
10,0%	1	$5,50.10^4$	0
	2	$9,50.10^4$	0
	3	$1,40.10^5$	$5,00.10^3$
	4	$1,10.10^5$	0

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Selenastrum capricornutum*

Início do teste 03	Final do teste	Amostra			Concentração inicial da alga (céls/ml)
		Origem	Tipo	Lote	
21/05/2001	25/05/2001	IPEN	DUA	-	1.10^5

Concentração da Amostra	Réplica	Concentração inicial da alga (Ci)	Concentração. final da alga (Cf)
Controle	1	$8,6.10^4$	$3,5.10^5$
	2	$2,5.10^4$	$5,0.10^5$
	3	$8,0.10^4$	$3,3.10^5$
	4	$4,5.10^4$	$5,5.10^5$
0,12%	1	$6,0.10^4$	$1,0.10^5$
	2	$2,0.10^4$	$1,9.10^5$
	3	$3,5.10^4$	$2,3.10^5$
	4	$6,0.10^4$	$1,6.10^5$
0,25%	1	$2,5.10^4$	0
	2	$1,5.10^4$	$1,0.10^4$
	3	$3,0.10^4$	$5,0.10^3$
	4	$3,5.10^4$	$2,5.10^4$
0,50%	1	$3,5.10^4$	0
	2	$2,5.10^4$	$5,0.10^3$
	3	$2,0.10^4$	$2,5.10^3$
	4	$5,0.10^4$	$2,1.10^3$
1,00%	1	$6,5.10^4$	$1,5.10^3$
	2	$8,0.10^4$	$3,5.10^3$
	3	$7,5.10^4$	$5,0.10^3$
	4	$4,0.10^4$	$1,5.10^3$
10,0%	1	$3,5.10^4$	0
	2	$6,0.10^4$	0
	3	$4,0.10^4$	0
	4	$7,0.10^4$	0

Apêndice 8: Planilhas de dados dos testes de sensibilidade de *Daphnia similis* ao dicromato de potássio.

Teste de sensibilidade para *Daphnia similis*.

Teste 01

Início do teste 18/04/2000	Final do teste 19/04/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	1	0	0	0	1	5	7.37	7.98	8.01	7.46
0,02	0	0	0	0	0	0	7.41	7.90	8.12	7.77
0,04	0	0	0	0	0	0	7.50	7.97	8.23	7.80
0,085	0	0	2	2	4	20	7.58	8.01	8.07	7.45
0,17	5	5	5	5	20	100	7.60	8.37	8.22	7.50
0,35	5	5	5	5	20	100	7.63	8.40	8.13	7.66
controle	0	0	0	0	0	0	7.01	8.02	8.23	7.84
Ec50 = 0,09										

Teste 02

Início do teste 25/04/2000	Final do teste 26/04/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.34	7.95	8.31	7.59
0,02	0	0	0	0	0	0	7.21	8.02	8.42	7.69
0,04	0	0	0	0	0	0	7.40	8.16	8.39	7.71
0,085	0	1	1	0	2	10	7.63	8.22	8.44	7.66
0,17	2	1	1	2	6	30	7.48	8.41	8.37	7.49
0,35	5	2	5	3	15	100	7.70	8.33	8.33	7.76
controle	0	0	0	0	0	0	7.09	8.10	8.44	7.48
Ec50 = 0,23										

Teste 03

Início do teste 03/05//2000	Final do teste 04/05/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
--------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.63	7.75	7.74	7.47
0,02	0	0	0	1	1	5	7.65	7.79	8.09	7.72
0,04	0	0	1	0	1	5	7.66	7.82	8.16	7.56
0,085	1	0	0	0	1	5	7.62	7.78	8.44	7.88
0,17	5	3	2	3	13	65	7.63	7.74	8.44	7.98
0,35	5	5	4	5	19	95	7.64	7.65	8.18	7.74
controle	0	0	0	0	0	0	7.98	7.72	8.11	7.74
Ec50 =0,15										

Teste 04

Início do teste 09/05/2000	Final do teste 10/05/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.65	7.54	8.77	8.21
0,02	0	0	2	0	2	10	7.68	7.49	8.68	8.33
0,04	1	1	1	0	3	15	7.64	7.51	8.72	8.27
0,085	2	0	1	1	4	20	7.71	7.46	8.59	8.12
0,17	2	3	2	3	10	50	7.69	7.50	8.62	8.24
0,35	4	2	3	3	12	60	7.60	7.53	8.08	7.86
controle	0	0	0	0	0	0	7.03	7.36	8.86	8.30
Ec50 =0,19										

Teste 05

Início do teste 23/05/2000	Final do teste 24/05/2000	Substância de referência $K_2Cr_2O_7$	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	--	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.31	7.56	8.43	8.20
0,02	0	0	0	0	0	0	7.33	7.44	8.22	8.08
0,04	0	0	0	0	0	0	7.25	7.46	8.31	8.12
0,085	0	0	0	0	0	0	7.24	7.48	8.47	8.24
0,17	2	1	2	2	7	35	7.28	7.47	8.63	8.43
0,35	4	3	1	3	11	55	7.25	7.48	8.21	7.77
controle	0	0	0	0	0	0	7.01	7.44	8.69	8.09
Ec50 = 0,29										

Teste 06

Início do teste 16/06/2000	Final do teste 17/06/2000	Substância de referência $K_2Cr_2O_7$	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	--	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.23	7.36	8.23	8.04
0,02	0	0	0	0	0	0	7.21	7.39	8.17	8.43
0,04	0	0	0	0	0	0	7.23	7.38	8.10	7.98
0,085	0	0	0	0	0	0	7.24	7.42	8.46	8.00
0,17	2	3	2	2	9	45	7.28	7.33	8.31	8.02
0,35	5	5	4	5	19	95	7.20	7.26	8.26	7.92
controle	0	0	0	0	0	0	7.06	7.39	8.40	7.97
Ec50 = 0,18										

Teste 07

Início do teste 28/06/2000	Final do teste 29/06/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.26	7.35	8.19	7.94
0,02	0	0	0	0	0	0	7.28	7.30	8.26	7.90
0,04	0	0	0	0	0	0	7.31	7.39	8.37	8.06
0,085	0	0	0	0	0	0	7.22	7.37	8.23	7.89
0,17	5	4	3	5	17	85	7.20	7.43	8.19	8.01
0,35	5	5	4	5	19	95	7.28	7.58	8.25	7.99
Controle	0	0	0	0	0	0	7.04	7.53	8.47	8.22
Ec50 = 0,15										

Teste 08

Início do teste 12/07/2000	Final do teste 13/07/2000	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.34	7.13	8.03	7.66
0,02	0	0	0	0	0	0	7.25	7.19	8.12	7.55
0,04	0	0	0	0	0	0	7.30	7.23	8.07	7.38
0,085	0	1	0	0	0	5	7.30	7.30	8.01	7.69
0,17	4	5	5	5	19	95	7.23	7.39	8.03	7.46
0,35	5	5	4	3	17	85	7.27	7.44	8.10	7.20
Controle	0	0	0	0	0	0	6.98	7.13	8.27	7.84
Ec50 = 0,20										

Teste 09

Início do teste 14/07/2000	Final do teste 15/07/2000	Substância de referência $K_2Cr_2O_7$	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	--	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.34	7.13	8.03	7.66
0,02	0	0	0	0	0	0	7.25	7.19	8.12	7.55
0,04	0	0	0	0	0	0	7.30	7.23	8.07	7.38
0,085	0	1	0	0	0	5	7.30	7.30	8.01	7.69
0,17	4	5	5	5	19	95	7.23	7.39	8.03	7.46
0,35	5	5	4	3	17	85	7.27	7.44	8.10	7.20
Controle	0	0	0	0	0	0	6.98	7.13	8.27	7.84
Ec50 =0,13										

Teste 10

Início do teste 19/07/2000	Final do teste 20/07/2000	Substância de referência $K_2Cr_2O_7$	Responsável Sílvia
-------------------------------	------------------------------	--	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,01	0	0	0	0	0	0	7.34	7.13	8.03	7.66
0,02	0	0	0	0	0	0	7.25	7.19	8.12	7.55
0,04	0	0	0	0	0	0	7.30	7.23	8.07	7.38
0,085	0	1	0	0	0	5	7.30	7.30	8.01	7.69
0,17	4	2	2	4	12	60	7.23	7.39	8.03	7.46
0,35	5	5	4	3	17	85	7.27	7.44	8.10	7.20
Controle	0	0	0	0	0	0	6.98	7.13	8.27	7.84
Ec50 =0,24										

Apêndice 9: Cálculo de CE(1)50;24h para os testes de sensibilidade de *Daphnia similis* ao dicromato de potássio.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 180400 TEST NUMBER: 01
CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION (MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	1	0	0	7	20	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	1.67%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.09
95% LOWER CONFIDENCE: 0.08
95% UPPER CONFIDENCE: 0.11

NOTE: MORTALITY PROPORTIONS WERE NOT MONOTONICALLY INCREASING.
ADJUSTMENTS WERE MADE PRIOR TO SPEARMAN-KARBER ESTIMATION.

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 250400 TEST NUMBER: 02
CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION (MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	2	6	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	25.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.23
95% LOWER CONFIDENCE: 0.16
95% UPPER CONFIDENCE: 0.35

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 030500 TEST NUMBER: 03
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	1	1	1	13	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.15
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.13
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.18

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 090500 TEST NUMBER: 04
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	2	3	4	10	12
SPEARMAN-KARBER TRIM:	40.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.19
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.07
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.54

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 230500 TEST NUMBER: 05
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA C

RAW DATA:

CONCENTRATION (MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	0	7	11
SPEARMAN-KARBER TRIM:	45.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.29
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.16
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.55

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 160600 TEST NUMBER: 06
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION (MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	0	9	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.18
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.15
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.22

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 280600 TEST NUMBER: 07
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	0	14	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.15
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.13
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.18

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 140700 TEST NUMBER: 08
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	1	6	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.20
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.17
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.24

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 220700 TEST NUMBER: 09
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	1	1	17	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.13
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.11
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.15

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 200900 TEST NUMBER: 10
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION(MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	1	3	18
SPEARMAN-KARBER TRIM:	10.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.24
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.20
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.28

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:
 HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 231100 TEST NUMBER: 11
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 48 H
 SPECIES: DAPHNIA

RAW DATA:

CONCENTRATION (MG\L)	0.01	0.02	0.04	0.09	0.17	0.35
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	0	0	1	9	14
SPEARMAN-KARBER TRIM:	30.00%					

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 0.20
 95% LOWER CONFIDENCE: 0.12
 95% UPPER CONFIDENCE: 0.34

Apêndice 10: Planilhas de dados dos testes de testes de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cloreto de sódio ao cloreto de sódio.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de sensibilidade para *Ceriodaphnia dubia*.

Teste 01

Início do teste 18/04/2000	Final do teste 20/04/2000	Substância de referência NaCl	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------

Concentração (g/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,70	0	0	0	0	0	0	7,03	7,37	7,98	8,16
1,00	0	2	1	1	4	20	7,03	7,37	7,98	8,16
1,30	4	3	2	3	12	60	7,03	7,37	7,98	8,16
1,60	5	5	5	5	20	100	7,03	7,37	7,98	8,16
1,90	5	5	5	4	19	95	7,03	7,37	7,98	8,16
Ec50 = 1,34										

Teste 02

Início do teste 25/05/2000	Final do teste 27/05/2000	Substância de referência NaCl	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------

Concentração (g/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,70	0	0	0	0	0	0	7,00	7,12	7,86	8,00
1,00	0	0	1	0	1	5	7,00	7,12	7,86	8,00
1,30	1	3	2	2	8	40	7,00	7,12	7,86	8,00
1,60	5	5	3	5	18	90	7,00	7,12	7,86	8,00
1,90	5	5	5	5	20	100	7,00	7,18	7,86	8,00
Ec50 = 1,32										

Teste 03

Início do teste 12/06/2000	Final do teste 14/06/2000	Substância de referência NaCl	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------

Concentração (g/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,70	0	0	0	0	0	0	7,09	7,12	8,12	8,09
1,00	0	1	1	0	2	10	7,09	7,12	8,12	8,09
1,30	1	0	1	0	2	10	7,09	7,12	8,12	8,09
1,60	4	2	3	3	12	60	7,09	7,12	8,12	8,09
1,90	5	5	5	5	20	100	7,09	7,18	8,12	8,09
Ec50 = 1,47										

Teste 04

Início do teste 12/07/2000	Final do teste 14/07/2000	Substância de referência NaCl	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------

Concentração (g/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Total	%	ini	fin	ini	fin
0,70	0	0	0	0	0	0	7,01	7,06	8,00	8,12
1,00	2	1	1	0	4	20	7,01	7,06	8,00	8,12
1,30	1	1	1	2	5	25	7,01	7,06	8,00	8,12
1,60	3	2	3	3	13	65	7,01	7,06	8,00	8,12
1,90	5	4	5	5	19	95	7,01	7,06	8,00	8,12
Ec50 = 1,40										

Apêndice 11: Cálculo de CE(1)50;24h para os testes de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cloreto de sódio.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:
 HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 180400 TEST NUMBER: 01 DURATION: 24
 CHEMICAL: NACL SPECIES: C.D.

RAW DATA:

CONCENTRATION (G\L)	0.70	1.00	1.30	1.60	1.90
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	2	6	17	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 1.34
 95% LOWER CONFIDENCE: 1.25
 95% UPPER CONFIDENCE: 1.44

FOR REFERENCE, CITE:
 HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 250500 TEST NUMBER: 02 DURATION: 24 H
 CHEMICAL: NACL SPECIES: C.D.

RAW DATA:

CONCENTRATION (G\L)	0.70	1.00	1.30	1.60	1.90
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	1	8	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 1.32
 95% LOWER CONFIDENCE: 1.23
 95% UPPER CONFIDENCE: 1.41

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 120600
 CHEMICAL: NAACL

TEST NUMBER: 03

DURATION: 24 H
 SPECIES: C.D.

RAW DATA:

CONCENTRATION(G\L)	0.70	1.00	1.30	1.60	1.90
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	2	2	12	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	1.47
	95% LOWER CONFIDENCE:	1.38
	95% UPPER CONFIDENCE:	1.58

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 120700
 CHEMICAL: NAACL

TEST NUMBER: 4

DURATION: 24 H
 SPECIES: C.D.

RAW DATA:

CONCENTRATION(G\L)	0.70	1.00	1.30	1.60	1.90
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	4	5	13	19
SPEARMAN-KARBER TRIM:	5.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	1.40
	95% LOWER CONFIDENCE:	1.27
	95% UPPER CONFIDENCE:	1.53

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 210800
 CHEMICAL: NAACL

TEST NUMBER: 5

DURATION: 24 H
 SPECIES: CD

RAW DATA:

CONCENTRATION(G\L)	0.70	1.00	1.30	1.60	1.90
NUMBER EXPOSED:	20	20	20	20	20
MORTALITIES:	0	2	2	17	20
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:	1.41
	95% LOWER CONFIDENCE:	1.32
	95% UPPER CONFIDENCE:	1.49

Apêndice 12: Planilhas de dados dos testes de sensibilidade de *Danio rerio* ao dicromato de potássio.

LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste de sensibilidade para *Danio rerio*.

LOTE 01

Início do teste 05/06/2001	Final do teste 06/06/2001	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	-	Total	%	ini	fin	ini	fin
50	0	0	0	-	0	0	6,4	6,5	8.0	7.4
100	0	0	1	-	1	7	6,0	6,2	8.1	7.7
200	3	3	2	-	8	53	5,8	5,9	8.2	7.8
300	5	4	4	-	13	86	5,8	5,7	8.0	7.4
400	5	5	5	-	15	100	5,6	5,5	8.2	7.5
controle	0	0	0	-	0	0	6,9	6,8	8.1	7.6
Ec50 = 182,74										

LOTE 02

Início do teste 06/06/2001	Final do teste 07/06/2001	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	-	Total	%	ini	fin	ini	fin
50	0	0	0	-	0	0	6,4	6,5	8.0	7.4
100	0	0	0	-	0	0	6,0	6,2	8.1	7.7
200	4	2	3	-	9	60	5,8	5,9	8.2	7.8
300	5	4	5	-	14	93	5,8	5,7	8.0	7.4
400	5	5	5	-	15	100	5,6	5,5	8.2	7.5
controle	0	0	0	-	0	0	6,9	6,8	8.1	7.6
Ec50 = 180,29										

LOTE 03

Início do teste 07/06/2001	Final do teste 08/06/2001	Substância de referência K ₂ Cr ₂ O ₇	Responsável Sílvio
-------------------------------	------------------------------	---	-----------------------

Concentração (mg/l)	No. ind. Imóveis/tubo				Imóveis		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	-	Total	%	ini	fin	ini	fin
50	0	0	0	-	0	0	6,4	6,5	8,0	7,4
100	0	0	0	-	0	0	6,0	6,2	8,1	7,7
200	2	4	4	-	10	67	5,8	5,9	8,2	7,8
300	5	4	4	-	14	93	5,8	5,7	8,0	7,4
400	5	5	5	-	15	100	5,6	5,5	8,2	7,5
controle	0	0	0	-	0	0	6,9	6,8	8,1	7,6
Ec50 = 173,81										

Apêndice 13: Cálculo de CE(1)50;24h para os testes de sensibilidade de *Danio rerio* ao dicromato de potássio.

RIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 05/06/01 TEST NUMBER: 01
CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 24 H
SPECIES: DANIO RERI

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	300.00	400.00
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	1	8	13	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 182.74
95% LOWER CONFIDENCE: 152.94
95% UPPER CONFIDENCE: 218.36

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 06.06.01 TEST NUMBER: 02
CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 24 H
SPECIES: DANIO RERI

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	300.00	400.00
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	0	9	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 180.29
95% LOWER CONFIDENCE: 155.81
95% UPPER CONFIDENCE: 208.62

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD. MONTANA STATE UNIV

FOR REFERENCE, CITE:

HAMILTON, M.A., R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7): 714-719;
 CORRECTION 12(4):417 (1978).

DATE: 07.06.01 TEST NUMBER: 3
 CHEMICAL: DICROMATO DE POTASSIO

DURATION: 24 H
 SPECIES: DANIO RER.

RAW DATA:

CONCENTRATION (mg/L)	50.00	100.00	200.00	300.00	400.00
NUMBER EXPOSED:	15	15	15	15	15
MORTALITIES:	0	0	10	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM:	0.00%				

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: EC50: 173.81
 95% LOWER CONFIDENCE: 150.95
 95% UPPER CONFIDENCE: 200.12
