

ECOTOXICIDADE DE METAIS PESADOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS: INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS FÍSICO- QUÍMICOS

Vinícius Valle Vianna Pinto¹, Sarah Dario Alves Daflon², Alyne Moraes Costa² e
Juacyara Carbonelli Campos²

1. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Departamento de Físico-Química –Laboratório de Fótons e Elétrons (LIFE);
2. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Departamento de Processos Inorgânicos. Laboratório de Tratamento de Águas e Reúso de Efluentes (LABTARE), Rio de Janeiro, RJ. Brasil.

RESUMO

Os efluentes industriais são uma das principais fontes de poluição do ecossistema aquático e em muitos destes efluentes, os principais agentes tóxicos presentes são os metais pesados. A legislação ambiental, nacional e internacional, estabelece limites máximos da concentração de metais para o descarte de efluentes e para a manutenção da vida nos corpos hídricos. No entanto, a ecotoxicidade dos metais é muito influenciada pelos aspectos físico-químicos do meio no qual encontram-se inseridos. O presente capítulo analisa como estes parâmetros físico-químicos afetam a ecotoxicidade dos metais pesados dos efluentes industriais. Para tanto, é apresentado um levantamento de ensaios ecotoxicológicos de águas contendo alguns desses metais para organismos de diferentes níveis tróficos como forma de verificar a ação deles nos organismos-teste. Em seguida, é analisado como os parâmetros físico-químicos pH, dureza, alcalinidade, salinidade e matéria orgânica dissolvida afetavam a ecotoxicidade destes metais em solução aquosa. Os parâmetros físico-químicos afetam a ecotoxicidade dos metais de forma bastante variada, dependendo da espécie do metal, do organismo e de efeitos sinérgicos ou antagônicos. Esta influência deve ser levada em consideração, pois a ecotoxicidade de um efluente contendo metais pesados pode ser subestimada, gerando impacto ambiental não previsto, ou mesmo superestimada, gerando custo para as indústrias.

Palavras-chave: Ecotoxicidade, Efluentes e Metais.

ABSTRACT

Industrial wastewaters are one of the main sources of pollution of the aquatic ecosystem, and in many of these effluents, the main toxic agents present are heavy metals. The environmental legislation, national and international, establishes maximum limits of the concentration of metals for the effluent discharge and the maintenance of life in water bodies. However, metal ecotoxicity is greatly influenced by the physical-chemical aspects of the

environment in which they are inserted. This chapter analyzes how these physical-chemical parameters affect the ecotoxicity of heavy metals from industrial effluents. To this do so, a survey of ecotoxicological tests of waters containing some of these metals for organisms of different trophic levels is presented as a way to verify their action in test organisms. Then it was analyzed how the physical-chemical parameters such as pH, hardness, alkalinity, salinity, and dissolved organic matter affected the ecotoxicity of these metals in an aqueous solution. The physical-chemical parameters affect the ecotoxicity of metals in a varied way, depending on the metal species, organism and synergistic or antagonistic effects. This influence should be taken into account because the ecotoxicity of an effluent containing heavy metals can be underestimated, generating unforeseen or even overestimated environmental impact, generating costs to industries

Keywords: Ecotoxicity, Wastewaters and Metals.

1. INTRODUÇÃO

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

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

A interface entre a biologia e a química dos metais é uma das mais importantes e desafiadoras áreas de estudo da ciência ambiental atualmente. Nos últimos anos, as pesquisas e o entendimento da ecotoxicidade de metais levaram a três conclusões muito importantes Wang (2013):

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

Apesar dos metais pesados ocorrerem naturalmente, em pequenas concentrações, no ambiente aquático de uma forma geral, a maior parte do problema ecotoxicológico gerado por eles é decorrente de atividades humanas como a mineração, siderurgia e diversos outros setores industriais, com destaque para a indústria de eletrônicos, processamento de metais em refinarias, queima de combustíveis em termoelétricas, produção de plástico e a indústria de papel e celulose (TCHOUNWOU et al., 2012).

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

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRINCIPAIS FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NA ECOTOXICIDADE DE METAIS

Conhecer as diferentes formas físico-químicas que os metais assumem é um ponto crucial para entender e prever o impacto que eventualmente poderão causar ao ecossistema.

Quando em solução, incluindo nas águas naturais e efluentes, os metais podem se apresentar totalmente dissolvidos (lábeis), complexados ou associados a fases coloidais e adsorvidos em partículas (HYNE et al., 2005).

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

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

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

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

2.1.1. pH

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

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

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

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

Contudo, há alguns resultados contraditórios na literatura para a toxicidade do cobre em relação ao pH. Erickson et al. (1996) encontraram um declínio nos valores de CL50 (concentração letal para 50% dos organismos testados) para o íon de cobre em pH maior que 7 em relação ao peixe *Pimephales promelas*. Nasu et al. (1983) demonstraram que tanto Cd quanto Cu causaram maior efeito deletério para a alga *Lemna paucicostata* em pH 5,1 do que em pH 4,1.

Les; Walker (1984) descobriram que a capacidade de ligação dos metais Cu, Cd e Zn na alga *Chroococcus parisi* aumentava quando o pH passava de 4 para 7, indicando maior toxicidade desses metais com o aumento do pH (WANG, 1987). Cusimano et al. (1986) mostraram que a toxicidade do cobre para o peixe *Oncorhynchus mykiss* em pH 7,0 era maior que em pH 4,7 (com CL50;96h igual a $2,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $66 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente).

Diversas explicações foram propostas para estes resultados opostos. Erickson et al. (1996) apontaram que valores mais baixos de CL50 em pH alto para o íon de cobre são consistentes com alguma toxicidade ser exercida por complexos de cobre que a princípio eram considerados não-biodisponíveis, como sugerido por Borgmann (1983). Andrew et al. (1977) já haviam proposto que alguns hidróxidos (como CuOH^+ e $\text{Cu}(\text{OH})_2$) e alguns carbonatos (como CuCO_3 e $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{-2}$) poderiam contribuir para a toxicidade do cobre em pH elevado. Condizentemente, Bui et al. (2016) encontraram melhores correlações ao considerar a biodisponibilidade de hidróxidos e carbonatos de cobre para os crustáceos *Daphnia humholtzi* e *Ceriodaphnia cornuta* e para o peixe *Dano rerio*. Cusimano et al. (1986) também propuseram que estes efeitos podiam ser causados por mecanismos fisiológicos. Em pH ácido, a secreção de muco pelo organismo pode mudar o ambiente em volta do

ligante biológico, na superfície das células das brânquias de peixes, por exemplo, levando a uma precipitação dos metais e não absorção dos mesmos (PLAYLE; WOOD, 1989).

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

A elevada estabilidade dos complexos de cobre, pode ser um motivo para, na maior parte das vezes, o efeito de complexação do aumento do pH superar o efeito da competição com o H^+ .

Bradley; Sprague (1985) já haviam afirmado que, tanto em água mole quanto dura, o zinco se tornava mais tóxico conforme o pH aumentava (de 5,5 para 7,0) e que, nesta faixa de pH, este efeito não podia ser resultado de alterações na especiação do zinco, visto que quase todo o zinco presente estaria na forma de $[Zn(H_2O)_6]^{+2}$, portanto, lábil.

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

Contudo, há também alguns resultados aparentemente contraditórios na literatura com relação ao zinco.

Belanger; Cherry (1990) encontraram uma toxicidade superior do zinco para *C. dubia* em pH igual a 6 do que em pH igual a 9. Heijerick et al. (2003) encontraram resultados semelhantes, com aumento da toxicidade do zinco para *D. magna* em pH 6 em comparação com pH 9, porém com relação à toxicidade crônica do metal. No entanto, Bradley; Sprague (1985) já haviam comentado que, em pH 9, a maior parte do zinco estará precipitada, o que significaria naturalmente uma toxicidade inferior, considerando-se que o precipitado de $Zn(OH)_2$ não é tóxico.

Schubauer-Beringan et al. (1993a) realizaram ensaios em água muito dura (300 mg.L^{-1} de $CaCO_3$) em três valores de pH distintos (6,3; 7,3 e 8,3) e determinou sua influência na

toxicidade de diversos metais para quatro organismos diferentes (*C. dubia*, *H. azteca*, *P. promelas* e *L. variegatus*). Os autores concluíram que, quando observada variação da toxicidade pelo pH, cobre e chumbo aparentavam ser mais tóxicos em pH baixo, enquanto zinco, níquel e cádmio se comportavam de forma oposta.

Para Wang (1987), as evidências, em geral, indicam que Cd, Cu e Zn aumentam sua toxicidade com o aumento do pH, enquanto Hg, Ni, Mn, Cu e Pb diminuem sua toxicidade com o aumento do pH.

Erickson et al. (1996) sugeriram que, certas vezes, uma função não-linear pode se adequar melhor à influência do pH na toxicidade de um metal para determinada espécie. Wang et al. (2016) propuseram, então, um terceiro modelo, de V invertido, onde existiria um mínimo de toxicidade em um pH ótimo intermediário.

Em um estudo da literatura, considerando 10 espécies de metais e diferentes espécies de organismos, os autores chegaram à conclusão de que 42% dos casos seguem o modelo 1 (diminuição da toxicidade com aumento do pH), 18% dos casos seguem o modelo 2 (aumento da toxicidade com aumento do pH) e 24% dos casos seguem o modelo 3 (com um pH ótimo de menor toxicidade). Além disso, 3,5% não mostraram relação do pH com a toxicidade e 12,5% se encaixaram em outros modelos.

Algumas espécies de metais apresentaram tendência apenas a um dos modelos (como o alumínio), enquanto outros se encaixam em vários modelos dependendo da espécie do organismo. Os três modelos propostos por Wang et al. (2016) podem ser observados na figura 1.

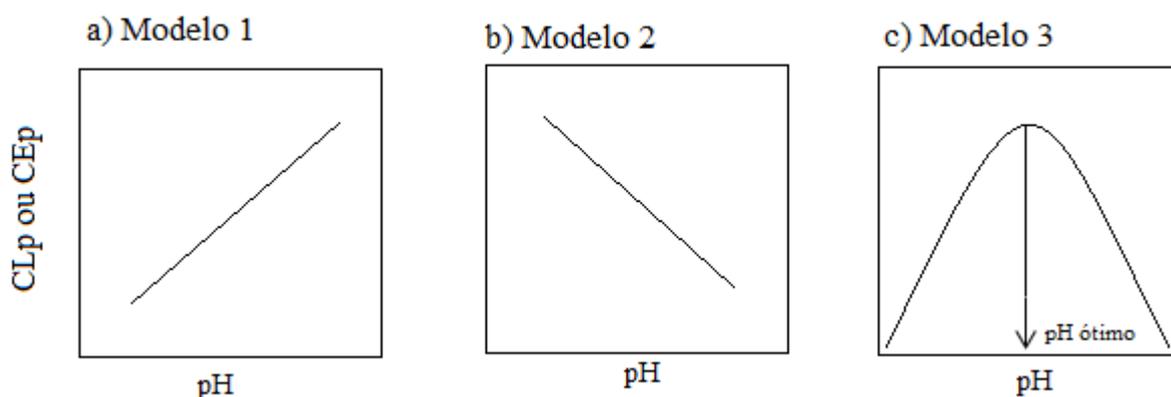


Figura 1. Principais modelos de variação da toxicidade com o pH.

Fonte: Adaptado de Wang et al. (2016)

2.1.2. Salinidade

A biodisponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade de metais em ambientes marinhos pode variar consideravelmente quando comparada com a de águas doces. A espécie predominante do cobre, por exemplo, em água salgada é a do carbonato (CuCO_3), com uma fração menor de complexos hidroxilados (Cu(OH)^- e Cu(OH)_2), que são consideradas normalmente espécies não-biodisponíveis. Além disso, o cobre pode competir com outros cátions na água salgada, diminuindo a acumulação no ligante biótico e sua toxicidade. Assim, um aumento na salinidade pode ter um efeito protetivo contra a toxicidade do cobre (COOPER et al., 2014).

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

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

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

Park et al. (2014) realizaram estudos sobre a toxicidade do cobre e do zinco em função da salinidade e reportaram que: não só houve uma diminuição da toxicidade de ambas as espécies para *T. japonicus* com aumento da salinidade, como também houve diminuição da concentração de íons livres dos metais, sendo mais acentuado para o zinco. Este resultado reforça a hipótese do mecanismo de precipitação dos metais por cloretos, sulfatos e carbonatos presentes na solução. O cobre pode combinar com íons sulfato para precipitar na forma de CuSO_4 (DU LAING et al., 2008), enquanto o zinco pode formar espécies sólidas carbonatadas (FROST; HALES, 2007).

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

Estudos com o peixe *Cyprinodan variegatus* em três salinidades diferentes (15, 20 e 25) mostraram que, quanto maior a salinidade, menores os efeitos do cádmio para os organismos (NEWMAN; JAGOE, 1996). Sunda et al. (1978) já haviam sugerido que os efeitos protetivos do aumento de salinidade podem ser atribuídos à complexação do cádmio por íons cloreto. Em água salgada, é possível observar uma suavização da acumulação de níquel nas brânquias do peixe *C. variegatus* para concentrações elevadas de níquel na água (BLEWETT et al., 2016). Em água doce este efeito não é observado.

No entanto, para o cobre, há alguns estudos controversos. Nadella et al (2009) realizaram estudos sobre a influência de matéria orgânica dissolvida e da salinidade sobre a toxicidade do cobre para larvas de mexilhão da espécie *Mytillus trossulus* e constataram que não havia efeito significativo da salinidade na toxicidade do cobre. Deruytter et al. (2015) propuseram um modelo baseado no BLM para analisar a toxicidade do cobre em salinidades e concentrações de matéria orgânica variadas mutualmente. No entanto, o resultado encontrado para a salinidade foi oposto ao previsto pelo BLM, mostrando uma diminuição de 60% na CE50 (concentração que causa efeito para 50% dos organismos testados) do Cu^{+2} para a salinidade mais alta quando comparada com a mais baixa. Deruytter et al. (2015) sugeriram que este aumento de toxicidade em salinidades mais altas seja devido a uma mudança fisiológica das larvas (*Mytillus galloprovincialis*) e não referente à competição ou especiação do metal. Resultados semelhantes foram observados para outros organismos como o peixe *Fundulus heteroclitus* e o anelídeo *Hediste diversicolor* (GROSSEL et al., 2007).

O cobre é normalmente mais tóxico em água doce por conta de sua capacidade de competir com outros cátions na interação com os sítios sensíveis do organismo. Organismos que são osmoreguladores absorvem sais em água doce e excretam sais em água salgada para manter seu equilíbrio osmótico, aumentando a absorção de cobre em água doce e, assim, sua toxicidade (COOPER et al., 2014).

2.1.3. Alcalinidade e Dureza

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

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

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

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

Esta relação Ca:Mg é importante ser levada em consideração, pois geralmente ensaios de ecotoxicidade conduzidos em laboratório usam águas com quantidades equivalentes de sulfato de cálcio e sulfato de magnésio, levando a uma proporção 1:1 de

Ca:Mg, enquanto águas naturais apresentam proporções que variam de 1.6:1 a 8:1 (NADDY et al., 2002). Contudo, Naddy et al. (2002) mostraram que o efeito que essa proporção tem na toxicidade do cobre varia de fatores como: a espécie do organismo teste, a dureza total da água e, em alguns casos, até mesmo o tempo de exposição.

Para *O. mykiss*, maiores proporções Ca:Mg provocaram uma inibição da toxicidade do cobre, assim como para períodos menores de 24h de exposição *P. promelas*. Já para ensaios crônicos com *P. promelas* (28 dias) a proporção Ca:Mg não teve diferença significativa, assim como para *C. dubia* e *Gammarus sp.* Indo no sentido oposto, ensaios com *Daphnia magna* mostraram que menores proporções Ca:Mg em água dura tiveram maiores valores de CL50, enquanto em durezas menores o efeito foi desprezível.

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

Van Genderen et al. (2007) observaram que para *C. dubia* e *P. promelas*, aumentando a dureza acima do limite de uso das equações regulatórias (400-1200 mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), o cálcio teve um efeito protetivo claro, aumentando o CL50 em 1,3 e 2,8 vezes, respectivamente para cada espécie. No entanto, o magnésio apresentou efeito protetivo apenas para *C. dubia*, tendo o CL50 de *P. promelas* permanecido relativamente constante.

Linbo et al. (2009) mostraram que, medindo o efeito tóxico do cobre na linha lateral de *D. rerio*, um aumento da dureza de 45 para 320 mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ provocou um aumento de 50% nos valores de CE50, independentemente do tipo de cátion (Ca^{+2} e Mg^{+2}) utilizado, ou mesmo de uma proporção entre eles.

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

Para o níquel, Kozlova et al. (2009) observaram que o efeito protetivo do cálcio era visivelmente maior que o do magnésio para *Daphnia pulex*, ainda que ambos tenham atuado na CE50 do organismo. Quando a concentração de Ca subia de 0,02 para 1,25 mmol. L^{-1} , o

valor de CE50;48-h aumentava 18 vezes. Já quando a concentração de Mg subia de 0,01 para 1,44 mmol.L⁻¹, o valor de CE50;48h aumentava em 2,3 vezes.

Yim et al. (2006) realizaram estudos para determinar a influência da dureza em soluções de metais isolados e em misturas de vários metais, de modo a concluir se os valores de CE50 e CL50 previstos para misturas eram corretamente calculados considerando dureza variável. Nos ensaios individuais com *D. magna*, os valores de CL50 encontrados para Cd, Cu, Pb e Zn foram, respectivamente: 3, 4, 95 e 300 µg.L⁻¹ em água mole e 4, 12, 894 e 1290 µg.L⁻¹ em água dura. A sensibilidade à dureza se mostrou na ordem Cd < Cu < Zn < Pb com 25, 65, 77 e 88% de decréscimo no CL50 quando água dura era substituída por água mole. No entanto, o cálculo da toxicidade da mistura se mostrou muito próximo da sua toxicidade real em toda a faixa de dureza, mostrando que para *D. magna* não existia efeito sinérgico ou antagônico na toxicidade dos metais e que a toxicidade de uma mistura pode ser bem prevista pela soma das toxicidades dos metais isolados, desde que se considere o efeito da dureza.

A alcalinidade, por outro lado, afeta diretamente a biodisponibilidade dos metais, alterando sua especiação. Um aumento na alcalinidade provoca uma maior complexação do cobre por íons carbonato e bicarbonato, diminuindo sua biodisponibilidade (DI TORO et al., 2001; GENSEMER et al., 2002; HYNE et al., 2005). Em altas alcalinidades, o precipitado de zinco é composto principalmente de ZnCO₃, ao invés do hidróxido (HEIJERICK et al., 2003).

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

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

Ao contrário, Gensemer et al. (2002) observaram uma variação de 85% na toxicidade do cobre para *C. dubia* quando houve variação da alcalinidade em águas muito duras. Os

resultados sugerem que, em águas muito duras, a toxicidade do cobre pode ser subestimada caso leve-se em consideração apenas o parâmetro da dureza. Alcalinidades baixas ou moderadas em águas muito duras podem resultar em uma maior toxicidade para o cobre e um simples limite de 400 mg.L^{-1} na regulamentação das águas pode não ser adequado caso não se leve em conta também a alcalinidade.

2.1.4. Matéria Orgânica Dissolvida (MOD)

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

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

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

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

Os cátions metálicos também podem ser classificados em dois tipos. O tipo A (como Ca e Mg), que complexam preferencialmente com ligantes que tem o oxigênio como átomo

doador de elétrons (ácidos húmicos, por exemplo) e o tipo B (como o Zn) que complexam preferencialmente com ligantes contendo I, S ou N como átomos doadores (HEIJERICK et al., 2003).

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

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

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

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

O mesmo acontece com o cádmio, que é outro metal que apresenta um comportamento discrepante em comparação com outros metais. Em ensaios com variadas quantidades de MOD para o Cu e o Cd com *D. magna*, os autores observaram que a CL50;

48h do cobre aumentou linearmente com o aumento da matéria orgânica de 0,75 a 30 mg.L⁻¹, enquanto o do cádmio se manteve sem grandes alterações de 0,75 a 44 mg.L⁻¹ de matéria orgânica. Como a água de diluição destes experimentos tinha dureza alta (em torno de 230 mg CaCO₃. L⁻¹) uma explicação razoável é que houve competição do Ca dissolvido com o Cd pelos sítios da MOD (TSUI et al., 2006)

Outros fatores, como salinidade, dureza e pH, afetam a capacidade da MOD de inibição da toxicidade. A força iônica muito maior de águas salgadas, por exemplo, pode afetar a reatividade da matéria orgânica de três maneiras: mudança na atividade tanto de íon metálicos quanto dos grupos funcionais envolvidos na complexação; competição de outros cátions dissolvidos pelos sítios do ligante; mudanças estruturais como dobramentos, desdobramentos ou formação de coloides (COOPER et al., 2014).

Alterações no pH também afetam a complexação de metais por MOD. Conforme o pH aumenta, ocorre desprotonação dos sítios ligantes da MOD, o que aumenta a possibilidade de complexação com o metal e reduz sua biodisponibilidade (DI TORO et al., 2001).

Cooper et al. (2014) concluíram que o acréscimo de MOD varia linearmente com a diminuição da toxicidade do cobre para o rotífero *Brachionus plicatilis* até 5 mg.L⁻¹ para todas as salinidades. Contudo, em elevado valor de salinidade (30) parece haver um ponto de saturação, em que o acréscimo de MOD não afeta significativamente a toxicidade do metal, em contrapartida com baixas salinidades (3) em que o comportamento continua linear para quantidades maiores de MOD.

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

O quadro 1 traz um resumo do que foi apresentado neste capítulo, elucidando de forma geral como cada aspecto físico-químico tratado influencia a toxicidade dos metais selecionados para este trabalho.

Quadro 1. Aspectos físico-químicos e sua influência geral na ecotoxicidade dos metais.

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

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

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

4. REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

BUI, T. L.; et al. Copper toxicity and the influence of water quality of Dongnai River and Mekong River waters on copper bioavailability and toxicity to three tropical species. **Chemosphere**, v. 144, p. 872-878, 2016.

CAMPBELL, P. G. C.; STOKES, P. M. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 42, p. 2034-2049, 1985.

CAMPBELL, P. G. C.; TWISS, M. R.; WILKINSON, K. J. Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells and its implication for the interaction of biota with toxic solutes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 54, p. 2543-2554, 1997

CHRISTENSON, H. K. DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Over-beek) theory and solvation forces between mica surfaces in polar hydrogen-bonding liquids. **Journal of The Chemic Society, Faraday Transactions**, v. 80, n. 1, p. 1933-1946, 1984.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, v. 88, p. 1707-1719, 2006.

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

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

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

DERUYTTER, D.; et al. Salinity and dissolved organic carbon both affect copper toxicity in mussel larvae: Copper speciation or competition cannot explain everything. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 1330-1336, 2015.

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

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

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

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

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

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

GROSSEL, M.; et al. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 162-172, 2007.

HEIJERICK, D. G.; JANSSEN, C. R.; DE COEN, W. M. The combined effects of hardness, pH and dissolved organic carbon on the chronic toxicity of Zn to *D. magna*: development of a surface response model. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, p. 210-217, 2003.

HYNE, R. V. et al. Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia cf dubia*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 1667-1675, 2005.

KIM, S. D.; et al. Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: Effect of complexation kinetics. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 2433-2437, 1999.

KINRAIDE, T. B. Plasma membrane surface potential (Ψ_{PM}) as a determinant of ion bioavailability: A critical analysis of new and published toxicological studies and a simplified method for the computation of plant Ψ_{PM} . **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 3188-3198, 2006.

KOUKAL, B.; et al. Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, v. 53, p. 953-961, 2003.

KOZLOVA, T.; WOOD, C. M.; MCGEER, J. C. The effect of water chemistry on the acute toxicity of nickel to the cladoceran *Daphnia pulex* and the development of a biotic ligand model. **Aquatic Toxicology**, v. 91, p. 221-228, 2009.

- KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): effects of temperature and salinity. **Marine Pollution Bulletin**, v. 51, p. 632-636, 2005.
- LAUREN, D. J.; MCDONALD, D. G. Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 155, n. 5, p. 635-644, 1985.
- LES, A.; WALKER, R. W. Toxicity and binding of copper, zinc, and cadmium by the blue-green alga, *Chroococcus parisi*. **Water, Air, Soil Pollution**, v. 23, p. 129-139, 1984.
- LINBO, T. L.; et al. Effects of water hardness, alkalinity, and dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the lateral line of developing fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p. 1455-1461, 2009.
- MARKICH, S. J.; JEFFREE, A. R. Absorption of divalent trace metals as analogues of calcium by Australian freshwater bivalves: an explanation on how water hardness reduces metal toxicity. **Aquatic Toxicology**, v. 29, p. 257-290, 1994.
- MARTINS, C. D. M. G.; BARCAROLLI I. F.; MENEZES, E. J. et al. Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: *In vivo* and *in vitro* studies. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 88-99, 2011.
- NADDY, R. B.; et al. The effect of calcium and magnesium ratios on the toxicity of copper to five aquatic species in freshwater. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 347-352, 2002.
- NADELLA, S. R.; et al. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni, and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 149, p. 340-348, 2009.
- NEWMAN, M. C.; JAGOE, C. H. **Ecotoxicology: a hierarchical treatment**. Boca Raton: CRC Press, p. 67-83. 1996.
- PAGENKOPF, G. K. Gill Surface Interaction Model for trace-metal to fishes: role of complexation, pH, and water hardness. **Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 342-347, 1983.
- PARK, J.; et al. Effect of salinity on acute copper and zinc toxicity to *Trigriopus japonicus*: The difference between metal ions and nanoparticles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 2, p. 526-531 2014.
- PETERSON, H. G.; HEALEY, F. P.; WAGEMANN, R. Metal toxicity to algae: a highly pH dependent phenomenon. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 41, p. 974-979, 1984
- PLAYLE, R. C.; WOOD, C. M. Water chemistry changes in the gill micro-environment of rainbow trout: experimental observations and theory. **Journal of Comparative Physiology Series B**, v. 159, p. 527-537, 1989.
- SCHUBAUER-BERINGAN, M. K.; et al. pH-Dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 1261-1266, 1993a.

SCHUBAUER-BERINGAN, M. K.; et al. The Behavior and Identification of Toxic Metals in Complex Mixtures: Examples from Effluent and Sediment Pore Water Toxicity Identification Evaluations. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 298-306, 1993b.

SCHWARTZ, M. L.; CURTIS, J. P.; PLAYLE, R. C. Influence of natural organic matter source on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 12, p. 2889-2899, 2004.

STARY, J. et al. Cumulation of zinc, cadmium and mercury on the alga *Scenedesmus obliquus*. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 11, p. 401-409, 1983.

SUNDA, W.; GUILLARD, R. R. L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. **Journal of Marine Research**, v. 34, p. 511-529, 1976.

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

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

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

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

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

WANG, W. Prediction of metal toxicity in aquatic organisms. **Chinese Science Bulletin**, v. 58, p. 194-202, 2013.

WANG, Z.; MEADOR, J. P.; LEUNG, K. M. Y. Metal toxicity to freshwater organisms as a function of pH: a meta-analysis. **Chemosphere**, v. 144, p. 1544-1552, 2016.

WHITTON, B. A.; SAY, P. J.; JUPP, B. P. Accumulation of zinc, cadmium, and lead by the aquatic liverwort *Scapania*. **Environmental Pollution**, v. 3, p. 299-316, 1982.

YIM, J. H.; KIM, K. W.; KIM, S. D. Effect of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*: Prediction of acid mine drainage toxicity. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 138, p. 16-21, 2006.