



SETAC – Brazil

## Avaliação e Identificação da Toxicidade no Rio Baquirivu-Guaçu (Alto Tietê)

S. V. BURATINI,\* M. A. ARAGÃO, R. P. A. ARAÚJO, V. A. PRÓSPERI & L. I. WERNER

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), Setor de Ecotoxicologia Aquática (EAHE), Avenida Prof. Frederico Hermann Jr., 345, Alto de Pinheiros, CEP 05459-900, São Paulo, SP

### RESUMO

Os estudos de Avaliação e Identificação da Toxicidade (AIT) envolvem um conjunto de procedimentos, efetuados em três fases progressivas (caracterização, identificação e confirmação), nos quais amostras tóxicas são submetidas a tratamentos físicos e químicos, com o objetivo de identificar os compostos causadores dessa toxicidade. As manipulações relativas às Fases I e/ou II desses estudos foram aplicadas a amostras de água superficial coletadas no Rio Baquirivu-Guaçu (Bacia do Alto Tietê), no período de 2003 a 2005. Para avaliar os efeitos tóxicos, foram realizados testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia dubia*. Os resultados obtidos nos experimentos da Fase I indicaram compostos orgânicos não polares (normalmente presentes em esgotos domésticos sem tratamento) como agentes responsáveis pela toxicidade de duas amostras. Já para uma terceira amostra foram evidenciados metais catiônicos como prováveis agentes tóxicos, sendo que manipulações da Fase II permitiram identificar o zinco como responsável pelo efeito agudo ao microcrustáceo.

*Palavras-chave:* águas superficiais, avaliação e identificação da toxicidade, *Ceriodaphnia dubia*, toxicidade.

### ABSTRACT

#### Toxicity identification evaluations in Baquirivu-Guaçu River

Toxicity Identification Evaluation studies (TIE) include a set of procedures, conducted in three progressive phases (characterization, identification and confirmation), in which toxic samples are submitted to physical and chemical treatments, with the purpose of identifying the causes of toxicity. Manipulations relative to Phase I and Phase II TIE procedures were applied to superficial water samples collected in Baquirivu-Guaçu River (Alto Tietê Basin), between 2003 and 2005. Acute ecotoxicological assays with *Ceriodaphnia dubia* were performed. Results from Phase I experiments showed non polar organic compounds (commonly present in non-treated domestic sewage) as responsible for the toxicity of two samples. With a third sample, results indicated cationic metals as probable toxic agents and Phase II manipulations permitted identifying zinc as the responsible for acute effects to the microcrustacean.

*Key words:* *Ceriodaphnia dubia*, surface waters, toxicity, toxicity identification evaluations.

### INTRODUÇÃO

Desenvolvidos inicialmente para avaliar a toxicidade de substâncias químicas e para o controle do lançamento de efluentes líquidos (USEPA, 1985; CETESB, 1990), os testes de toxicidade com organismos aquáticos rapidamente se estenderam ao diagnóstico da qualidade de águas superficiais (de Vlaming *et al.*, 2000), as quais, de modo similar aos

efluentes, podem constituir misturas complexas, com a coexistência de diferentes substâncias em concentrações tóxicas.

Visando à identificação dos agentes responsáveis pelos efeitos tóxicos de efluentes, de forma que medidas mitigadoras possam ser implementadas e, posteriormente, avaliadas quanto à sua eficiência, foram elaborados protocolos para a execução de Estudos de Avaliação e Redução da Toxicidade. Um dos componentes desses protocolos são os estudos para Avaliação

\*Corresponding author: Sandra Valéria Buratini, e-mail: sandrab@cetesbnet.sp.gov.br.

e Identificação da Toxicidade que, efetivamente, destinam-se à identificação dos agentes tóxicos (Burkhard & Ankley, 1989).

Tais estudos têm sido igualmente conduzidos com amostras de águas superficiais, com o propósito de identificar as fontes pontuais e/ou difusas responsáveis por sua toxicidade (Bailey et al., 2000; de Vlaming et al., 2000; Werner et al., 2000), permitindo que medidas eficientes de controle possam ser adotadas. Segundo Waller et al. (2005), esses procedimentos devem ser introduzidos no monitoramento de ambientes aquáticos, sendo necessários ao “restabelecimento das comunidades e à proteção da integridade desses ecossistemas”.

Os estudos de Avaliação e Identificação da Toxicidade procuram isolar os agentes tóxicos presentes em uma amostra, em função de sua reação a uma série de manipulações físicas e químicas, abrangendo três fases progressivas:

**Fase I ou fase de caracterização:** a amostra é dividida em alíquotas e cada uma destas é submetida a uma manipulação física ou química diferente, de modo a remover, alterar ou tornar biologicamente não disponível determinado grupo de agentes tóxicos. Com as subamostras resultantes de cada manipulação, realiza-se um teste de toxicidade para detectar ausência, redução ou continuidade dos efeitos, gerando informações sobre a natureza do agente tóxico.

**Fase II:** corresponde à fase de identificação, em que as técnicas de fracionamento das amostras tóxicas são aplicadas em conjunto com análises químicas, voltadas à identificação dos contaminantes suspeitos.

**Fase III ou fase de confirmação:** destina-se a confirmar a identificação do agente tóxico.

Com o objetivo de apontar os agentes causadores da toxicidade, repetidamente observada em águas superficiais de alguns pontos da Rede de Monitoramento do Estado de São Paulo, a CETESB iniciou, em 2003, a implantação dos estudos de Avaliação e Identificação da Toxicidade, com amostras coletadas no Rio Baquirivu-Guaçu, situado na Bacia do Alto Tietê, Zona Metropolitana. Trata-se de um manancial hipereutrófico, cujas águas vêm constantemente sendo enquadradas nas classes ruim e péssima. As elevadas concentrações de fósforo total e surfactantes, bem como as altas densidades de coliformes, refletem o aporte de esgoto doméstico sem tratamento. Também têm sido detectados nas amostras altos teores de metais (sobretudo alumínio, cobre e zinco), provenientes, provavelmente, das atividades agrícolas e industriais (galvanoplastia, entre outras), desenvolvidas nas adjacências e a montante (CETESB, 2003). Como consequência, todas as amostras coletadas nesse ponto nos anos de 2003 a 2005 causaram efeito agudo a *Ceriodaphnia dubia*, tendo sido recomendada a investigação das causas efetivas para direcionar e otimizar as ações de controle.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Fase I

Os experimentos relativos à Fase I foram conduzidos com três das quatro amostras de água superficial (amostras 1, 2 e 3), coletadas no Rio Baquirivu-Guaçu entre 2003 e 2005.

Foram seguidos os procedimentos descritos em USEPA (1991), incluindo, no dia da entrada da amostra, a realização de análises físicas e químicas rotineiras (pH, oxigênio dissolvido, condutividade, dureza e amônia total) e de um teste de toxicidade aguda inicial, com o objetivo de obter a CL50;24h e definir as concentrações a serem utilizadas nos ensaios com as alíquotas manipuladas. Nos dois dias subsequentes, alíquotas da amostra foram submetidas a diferentes manipulações (Tabela 1) e avaliadas quanto à toxicidade. Ressalta-se que algumas manipulações foram efetuadas no pH inicial da amostra e, também, nos pHs 3 e 11 (tais alterações de pH afetam solubilidade, polaridade, volatilidade, estabilidade e especiação de compostos, o que pode mudar sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua toxicidade).

A cada dia de manipulações foi efetuado um teste-base, ou seja, um teste de toxicidade com a amostra não manipulada, para avaliar a alteração dos efeitos tóxicos ao longo do tempo e, também, para permitir a comparação dos resultados.

Os ensaios de toxicidade aguda consistiram na exposição de organismos jovens de *Ceriodaphnia dubia* a uma série de concentrações da amostra, utilizando-se 0,5 como fator de diluição. Foram preparadas 2 a 3 réplicas por concentração, adicionando-se 10 mL de solução-teste. Ainda conforme o referido procedimento, antes da introdução de 5 organismos-teste por réplica, adicionou-se alimento (2 gotas de suspensão algácea de *Selenastrum capricornutum* e 1 gota de ração para peixes ornamentais TETRAMIN® solubilizada). Os testes foram mantidos em incubadora a 25°C, com um fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, durante 48 horas. Ao final deste período registrou-se o número de organismos mortos em cada réplica.

Como controle dos testes inicial e base, para preparo de todas as soluções-teste e para preparo dos brancos (água de diluição manipulada da mesma forma que a amostra e testada quanto à toxicidade para verificar se há introdução de algum efeito tóxico), utilizou-se a água de cultivo desse microcrustáceo, ou seja, água natural do reservatório de Ribeirão do Pirai. Esta apresenta valores de pH e dureza próximos aos geralmente registrados nas águas do Rio Baquirivu-Guaçu.

Para análise estatística dos dados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, utilizou-se o Programa Trimmed Spearman-Kärber (USEPA, 2002), e os valores de CL50;48h resultantes foram convertidos em Unidades Tóxicas (100/CL50).

Tabela 1 – Fase I: manipulações e agentes-alvo, segundo USEPA (1991).

Manipulação	Agente-alvo
Ajuste do pH de 2 alíquotas de amostra (pH 3 e 11) <sup>(1)</sup>	Compostos afetados por mudanças extremas de pH (sulfetos, cianetos)
Filtração de 3 alíquotas de amostra (pH inicial, 3 e 11), em membrana de fibra de vidro de 1 µm <sup>(1)</sup>	Sólidos filtráveis ou compostos cuja solubilidade é influenciada por condições ácidas e básicas
Aeração de 3 alíquotas de amostra (pH inicial, 3 e 11) <sup>(1)</sup>	Compostos voláteis (solventes orgânicos), oxidáveis (cloro) ou flotáveis (surfactantes)
Extração em fase sólida – Coluna C <sub>18</sub> - de 3 alíquotas de amostra (pH inicial, 3 e 9) <sup>(1); (2)</sup>	Compostos orgânicos não polares (solventes, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos polinucleares)
Eluição da coluna C <sub>18</sub> com metanol 100%	Recuperação da toxicidade devida a compostos orgânicos não polares
Adição de 3 volumes de uma solução-estoque de EDTA <sup>(3)</sup> a 3 séries de diluições da amostra	Metais catiônicos (cobre, zinco, níquel, cádmio)
Adição de 3 volumes de uma solução-estoque de Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>(4)</sup> a 3 séries de diluições da amostra	Oxidantes (cloro, peróxidos), além de certos metais catiônicos (cobre, cádmio e mercúrio)
Gradação de pH: ajuste do pH de 3 alíquotas de amostra para 6, 7 e 8 ou 6,5, 7,5 e 8,5	Compostos sensíveis a variações do pH dentro da faixa fisiologicamente aceitável (6 a 9), caso de certos metais e amônia

(1) Antes da realização do teste de toxicidade, o pH das alíquotas foi reajustado para o valor inicial.

(2) A coluna degrada-se em valores de pH superiores a 9, daí o ajuste do pH antes da passagem da amostra pela coluna.

(3) EDTA = Ácido etilenodiaminotetracético.

(4) Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = Tiosulfato de sódio.

Para verificar se os resultados obtidos nos testes com as amostras manipuladas foram significativamente diferentes daqueles obtidos nos respectivos testes-base, aplicou-se a fórmula proposta em USEPA (1985), a qual permite a comparação de valores de CL50 obtidos em dois testes distintos. Na impossibilidade de efetuar tal procedimento (ausência do intervalo de confiança, por exemplo), calculou-se a razão entre a CL50 obtida com a amostra manipulada e a CL50 do respectivo teste-base. Considerou-se a significância dos resultados quando as razões entre as CLs50 foram maiores do que 2.

### Fase II

Os procedimentos correspondentes à Fase II (USEPA, 1993) foram direcionados pelas manipulações da Fase I que promoveram maior redução dos efeitos tóxicos. Assim, para identificação de compostos orgânicos não polares (amostras 3 e 4), efetuou-se a filtração de 2 L de amostra em membrana de fibra de vidro de 1 µm, seguida da divisão da mesma em duas alíquotas de 1 L. Cada alíquota foi submetida à extração em uma coluna C<sub>18</sub>, coletando-se as amostras pós-coluna para realização de testes de toxicidade. Posteriormente, cada coluna foi eluída com soluções de metanol e água progressivamente menos polares (25%, 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% e

100%) e cada eluato foi testado individualmente quanto à toxicidade, mediante a adição de 150 µL da fração em 10 mL de água de diluição. Os eluatos também foram encaminhados para análise qualitativa de semivoláteis por cromatografia gasosa com detector de massa (USEPA, 1996).

Para a identificação de metais (amostras 2 e 4), os procedimentos relativos à Fase II incluíram o levantamento dos dados históricos de monitoramento (CETESB, 2003; 2004). Com base nestes, solicitaram-se análises de alumínio, cobre e zinco, metais com probabilidade de ocorrência em concentrações potencialmente tóxicas a *Ceriodaphnia dubia* nas águas coletadas nesse ponto. Para tais determinações, utilizou-se a espectrometria ótica de emissão com plasma de argônio (APHA, 1998).

Foram realizados, também, testes de toxicidade com adições de volumes progressivos de EDTA e tiosulfato de sódio a diluições da amostra, levantamento dos valores de CL50 disponíveis na literatura para os metais relacionados e um teste de referência. Este último foi efetuado por adições de EDTA a uma série de concentrações da água de diluição (com pH e dureza idênticos aos da amostra), contaminada com a mesma quantidade do metal suspeito detectado na amostra (USEPA, 1993).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Fase I

Em relação aos ensaios ecotoxicológicos, observou-se que, uma vez detectada, a toxicidade se manteve ao longo do tempo, sem evidências de degradação, conforme evidenciado pelos valores similares de CL50 obtidos nos testes inicial e base do 2º e 3º dias (Tabela 2). Ainda na Tabela 2, verifica-se que a extração em fase sólida (coluna C<sub>18</sub>) reduziu significativamente a toxicidade das amostras 1 e 3, independentemente da faixa de pH. Portanto, dividindo-se a CL50 obtida no teste-base pela CL50 obtida após essa

manipulação, verifica-se que a redução foi de quatro unidades tóxicas para a amostra 1 e 5,8 unidades tóxicas para a amostra 3. A recuperação da toxicidade após a eluição das colunas com metanol evidencia compostos orgânicos não polares como agentes tóxicos primários.

Com a amostra 2, mais tóxica que as demais (entre 20,7 e 27,9 unidades tóxicas no teste-base), observou-se redução de toxicidade nos testes com filtração em pH inicial, com extração em fase sólida com pH 9,0 (sem recuperação dos efeitos após a eluição com metanol) e nos ensaios com adições de EDTA. Tais resultados, principalmente os relativos ao EDTA, apontam metais catiônicos como prováveis agentes responsáveis.

**Tabela 2** – Resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia dubia* realizados com as amostras do Rio Baquirivu-Guaçu – Fase I.

Dia	Teste	CL50 (48h) em unidades tóxicas			
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	
1	Inicial	5,6	>16,0	7	
	Base	5,6	20,7	7	
2	Ajuste de pH	pH 3,0	7,1	18,5	7,4
		pH 11,0	5,0	21,4	5,3
		pH 3,0	3,5	18,7	7,4
	Ajuste de pH/aeração	pH inicial	3,8	16,2	6,5
		pH 11,0	3,6	16,2	5,6
		pH 3,0	3,5	16,2	4,6
	Ajuste de pH/filtração	pH inicial	5,7	<10,0 <sup>(R)</sup>	5,3
		pH 11,0	3,3	23,7	4,0
		Base	5,6	27,9	7,6
	3	Extração em coluna C <sub>18</sub>	pH 3,0	<1,3 <sup>(R)</sup>	28,3
pH inicial			<1,3 <sup>(R)</sup>	14,3	<1,3 <sup>(R)</sup>
pH 9,0			<1,3 <sup>(R)</sup>	<10,0 <sup>(R)</sup>	<1,3 <sup>(R)</sup>
Adição de EDTA		0,2 mL	> 5,0	<10,0 <sup>(R)</sup>	4,7
		0,05 mL	> 5,0	<10,0 <sup>(R)</sup>	> 5,3
		0,0125mL	> 5,0	<10,0 <sup>(R)</sup>	5,3
Adição de Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,5 mL	> 5,0	>40	> 5,3	
	0,25 mL	> 5,0	>40	> 5,3	
	0,125 mL	> 5,0	>40	> 5,3	
Eluato (teste efetuado pela adição de 150 µL do eluato a 10 mL de água de diluição)	pH 3,0	T	NT	T	
	pH inicial	T	NT	T	
	pH 9,0	T	NT	T	

(R) = redução significativa de toxicidade.

T = tóxico.

NT = não tóxico.

Com a amostra 4 foram efetuados diretamente os experimentos da Fase II para identificação dos compostos suspeitos evidenciados nas amostras anteriores. Entretanto, a mesma não apresentou qualquer toxicidade a *Ceriodaphnia dubia*.

### Fase II

Os procedimentos da Fase II, destinados à identificação de compostos orgânicos não polares na amostra 3, não foram conclusivos por problemas operacionais.

Para a identificação da toxicidade devida a metais apontada na amostra 2, verificou-se que, embora correspondessem às concentrações totais e não às frações biodisponíveis dos metais, os teores de cobre e zinco detectados nessa amostra (Tabela 3) seriam capazes, isoladamente, de causar efeito agudo a *Ceriodaphnia dubia* em águas com dureza similar à da amostra (Belanger *et al.*, 1990; Hockett & Mount, 1996).

O alumínio não tem sua toxicidade reduzida por nenhum dos dois agentes complexantes, embora apresente constante de estabilidade moderada ( $\log K = 16,1$ ) para formação de complexos com EDTA. Já o zinco e o cobre respondem ao

EDTA, porém o zinco não responde ao tiosulfato, pois a constante de estabilidade para complexos de  $Zn^{2+}$  com esse agente é baixa ( $\log K = 2,35$ ) (Hockett & Mount, 1996). Assim, como não foi observada a redução dos efeitos nas adições de tiosulfato, pode-se inferir que o zinco seria o metal responsável pela toxicidade ao microcrustáceo nesta amostra.

Em seguida, efetuou-se o cálculo da toxicidade relativa a esse metal na amostra, utilizando-se os dados obtidos na literatura. Assim, dividiu-se a concentração nominal do zinco na amostra ( $5,2 \text{ mg L}^{-1}$ ) pela sua  $CL_{50;48h}$  a *Ceriodaphnia dubia* ( $0,199 \text{ mg L}^{-1}$  em água com dureza entre 70 e 90  $\text{mg L}^{-1}$  em  $\text{CaCO}_3$ , segundo Diamond *et al.* (1997)). O resultado – 26 unidades tóxicas – foi bastante próximo ao obtido no teste-base do 3º dia de ensaio, ou seja, 27,9 unidades tóxicas.

No teste de referência (Tabela 4), observou-se redução da toxicidade em função do aumento da concentração de EDTA. Dessa forma, mesmo considerando as diferenças entre as duas matrizes (amostra e água de diluição contaminada com zinco), que podem interferir na biodisponibilidade do metal, observou-se que os resultados foram coerentes, indicando que o zinco provavelmente foi o responsável pelos efeitos tóxicos da amostra 2.

Tabela 3 – Concentrações obtidas para os metais avaliados nas amostras.

Parâmetro	Amostra			
	1	2	3	4
Alumínio total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	NR <sup>(*)</sup>	4,1	1,05	1,00
Cobre total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	NR	0,1	0,12	0,02
Zinco total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	NR	5,2	0,12	0,10

(\*) NR = Análise não realizada.

Tabela 4 – Resultados obtidos no teste de referência.

EDTA	$CL_{50;48h}$ (em unidades tóxicas)
Sem adição	> 8,3
Adição de 0,0125 mL	5,8
Adição de 0,05 mL	1,4
Adição de 0,2 mL	<1,0

As manipulações relativas à Fase II para identificação de metais e compostos orgânicos não polares também foram conduzidas com a amostra 4, a qual, como já mencionado, não apresentou efeitos tóxicos. As análises dos metais nessa amostra (Tabela 3) revelaram que somente o zinco estava presente em níveis capazes de causar algum efeito tóxico a *Ceriodaphnia dubia*. No que se refere aos compostos orgânicos, a análise qualitativa, efetuada com a amostra bruta, revelou a presença de substâncias provenientes do lançamento de esgotos domésticos sem tratamento, como a cafeína, o difenil-éter e o 1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil-ciclopenta[g]-2-benzopiran. Este último, também conhecido como HHCB, é um composto sintético do almíscar, utilizado em produtos de higiene pessoal e de limpeza; apresenta elevado fator de bioconcentração ( $\log K_{ow}$  entre 5,3 e 5,9) e é considerado tóxico a organismos aquáticos em baixas concentrações – sua CE50;48h para *Daphnia magna* é de 0,28 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a CL50;21d para *Lepomis macrochirus* é de 0,45 mg L<sup>-1</sup> (www.epa.gov/hpv/publs/summaries/cyclopen/, acesso em 22/03/07). Contudo, como essa amostra não apresentou toxicidade ao microcrustáceo, pode-se supor que o HHCB provavelmente estava complexado ou em quantidades inferiores às concentrações de efeito.

Portanto, pode-se dizer que compostos orgânicos não polares e zinco foram os agentes responsáveis pela toxicidade das amostras coletadas no Rio Baquirivu-Guaçu, apesar da grande variabilidade temporal da qualidade de suas águas, com a provável ocorrência de outros contaminantes.

*Agradecimentos* — Aos setores de Química Inorgânica e Química Orgânica da CETESB pelas análises realizadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA – American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 1998, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AWWA, WPCF)*. 20<sup>a</sup> ed. Washington.
- BAILEY, H. C., DEANOVIC, L., REYES, E., KIMBALL, T., LARSON, K., CORTRIGHT, K., CONNOR, V. & HINTON, D. E., 2000, Diazinon and chlorpyrifos in urban waterways in northern California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 82-87.
- BELANGER, S. E. & CHERRY, D. S., 1990, Interacting effects of pH acclimation, pH and heavy metals on acute and chronic toxicity to *C. dubia* (Cladocera). *J. Crust. Biol.*, 10: 225-235.
- BURKHARD, L. P. & ANKLEY, G. T., 1989, Identifying toxicants: NETAC's toxicity-based approach. *Environ. Sci. Technol.*, 23: 1438-1443.
- CETESB, 1990, *Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos*. Série manuais, 7p.
- CETESB, 2003, *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo*. v. 1, 271p.
- CETESB, 2004, *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo*. v. 1, 278p.
- de VLAMING, V., CONNOR, V., DiGIORGIO, C., BAILEY, H. C., DEANOVIC, L. A. & HINTON, D. E., 2000, Application of whole effluent toxicity test procedures to ambient water quality assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 42-62.
- DIAMOND, J. M., KOPLISH, D. E., McMAHON III, J. & ROST, R., 1997, Evaluation of the water-effect ratio procedure for metals in a riverine system. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16: 509-520.
- HOCKETT, J. R. & MOUNT, D. R., 1996, Use of metal chelating agents to differentiate among sources of acute aquatic toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15: 1687-1693.
- USEPA, 1985, *Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms*. EPA/600/4-85-013, 3<sup>rd</sup> ed.
- USEPA, 1991, *Methods for aquatic toxicity identification evaluations: phase i toxicity characterization procedures*. EPA/600/6-91/003, Environmental Research Laboratory, Duluth, MN.
- USEPA, 1993, *Methods for aquatic toxicity identification evaluations: phase ii toxicity characterization procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity*. EPA-600/R-92/080, Environmental Research Laboratory, Duluth, MN.
- USEPA, 1996, *Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)*. Method 8270C.
- USEPA, 2002, *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. EPA/821-R-02-012, 5<sup>th</sup> ed.
- WALLER, W. T., BAILEY, H.A., de VLAMING, V., HO, K. T., HUNT, J. W., MILLER, J. L., PILLARD, D. A., ROWLAND, C. D. & VENABLES, B. L., 2005, Ambient water, porewater and sediment. In: T. J. Norberg-King et al. (eds.). *Toxicity reduction and toxicity identification evaluations for effluents, ambient waters and other aqueous media*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), v. 4, p. 93-114.
- WERNER, I., DEANOVIC, L. A., CONNOR, V., de VLAMING, V., BAILEY, H.C. & HINTON, D.E., 2000, Insecticide-caused toxicity to *Ceriodaphnia dubia* (CLADOCERA) in the Sacramento-San Joaquin River Delta, California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 215-227.