

DIRECTIVE 98/15/CE DE LA COMMISSION

du 27 février 1998

portant modification de la directive 91/271/CEE du Conseil en ce qui concerne
certaines prescriptions fixées à son annexe I

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,
vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 91/271/CEE du 21 mai 1991 relative au
traitement des eaux urbaines résiduaires ⁽¹⁾, et notamment
son article 5, paragraphe 3,

considérant que les prescriptions relatives aux rejets
provenant des stations d'épuration des eaux urbaines rési-
duaires et effectués dans des zones sensibles sujettes à
l'eutrophisation, telles que rédigées au tableau 2 de l'an-
nexe I de la directive 91/271/CEE, soulevaient des
problèmes d'interprétation qu'il importe d'éclaircir; qu'il
convient de modifier en conséquence le tableau 2 de l'an-
nexe I de la directive;

considérant que les mesures prévues à la présente direc-
tive sont conformes à l'avis du comité prévu à l'article 18
de la directive 91/271/CEE,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

L'annexe I de la directive 91/271/CEE est modifiée
conformément à l'annexe de la présente directive.

Article 2

Les États membres mettent en vigueur les dispositions
législatives, réglementaires et administratives nécessaires

pour se conformer à la présente directive au plus tard le
30 septembre 1998. Ils en informent immédiatement la
Commission.

Lorsque les États membres adoptent ces dispositions,
celles-ci contiennent une référence à la présente directive
ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur
publication officielle. Les modalités de cette référence
sont arrêtées par les États membres.

Article 3

La présente directive entre en vigueur le vingtième jour
suivant celui de sa publication au *Journal officiel des
Communautés européennes*.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente direc-
tive.

Fait à Bruxelles, le 27 février 1998.

Par la Commission

Ritv BJERREGAARD

Membre de la Commission

(¹) JO L 135 du 30. 5. 1991, p. 40.

ANNEXE

Le tableau 2 de l'annexe I de la directive 91/271/CEE est remplacé par le texte suivant:

«Tableau 2: Prescriptions relatives aux rejets provenant des stations d'épuration des eaux urbaines résiduaires et effectués dans des zones sensibles sujettes à eutrophisation, telles qu'identifiées à l'annexe II, point A a). En fonction des conditions locales, on appliquera un seul paramètre ou les deux. La valeur de la concentration ou le pourcentage de réduction seront appliqués.

Paramètres	Concentration	Pourcentage minimal de réduction (%)	Méthode de mesure de référence
Phosphore total	2 mg/l (EH compris entre 10 000 et 100 000) 1 mg/l (EH de plus de 100 000)	80	Spectrophotométrie par absorption moléculaire
Azote total (*)	15 mg/l (EH compris entre 10 000 et 100 000) (*) 10 mg/l (EH de plus de 100 000) (*)	70-80	Spectrophotométrie par absorption moléculaire

(*) Réduction par rapport aux valeurs à l'entrée.

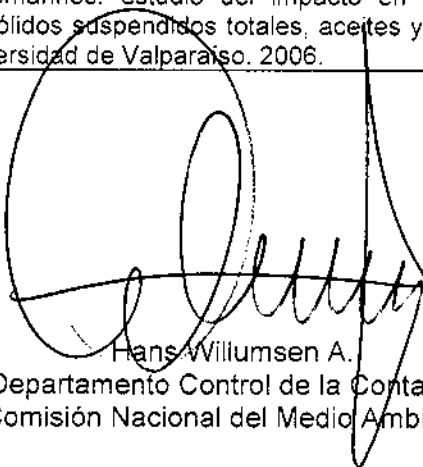
(*) Azote total signifie le total de l'azote dosé selon la méthode de Kjeldahl (azote organique et ammoniacal), de l'azote contenu dans les nitrates et de l'azote contenu dans les nitrites.

(*) Ces valeurs de la concentration sont des moyennes annuelles, selon l'annexe I, point D 4 c). Toutefois, les exigences pour l'azote peuvent être vérifiées en utilisant des moyennes journalières quand il est prouvé, conformément à l'annexe I, point D 1, que le même niveau de la protection est obtenu. Dans ce cas, la moyenne journalière ne peut pas dépasser 20 mg/l d'azote total pour tous les échantillons, quand la température de l'effluent dans le réacteur biologique est supérieur ou égale à 12 °C. La condition concernant la température pourrait être remplacée par une limitation du temps de fonctionnement tenant compte des conditions climatiques régionales.

ANEXOS CORRESPONDIENTES A CARTA ANDESSCHILE, 30 Agosto 2007

Con fecha 30 de Agosto de 2007, se archiva la siguiente información, para el proceso de Revisión del DS 90, Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales

Nombre del Documento	Formato
ANEXO 1: Análisis científico- técnico de la validez teórica y práctica del método de calculo de la ZPL, en el DS 90. Agosto 2007	Papel
ANEXO 2: Aportes contaminantes de las Aguas Servidas Crudas en el Territorio Operacional de Esva S.A. Año 2005	Papel
ANEXO 2: Informe de Caracterización de las Aguas Servidas Domésticas en localidades dentro del territorio operacional de Aguas del Valle S.A. Año 2005	Papel
ANEXO 4: Emisarios submarinos: estudio del impacto en el medio marino de los parámetros sólidos suspendidos totales, aceites y grasas y sólidos sedimentables. Universidad de Valparaíso. 2006.	Papel



Hans Willumsen A.
Jefe Departamento Control de la Contaminación
Comisión Nacional del Medio Ambiente

ELS/



GOBIERNO DE CHILE
COMISION NACIONAL
DEL MEDIO AMBIENTE

OF. ORD. D.E.: N° 072842 /

ANT: No hay.

MAT: Solicitud de entrega de información.

Santiago, 31 AGO 2007

DE : JEFE DEPARTAMENTO CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN
COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE

A : SEGÚN DISTRIBUCIÓN

En relación al proceso de revisión de la **"Norma de Emisión para la Regulación de los Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales D.S N° 90"** y tal como fue acordado en la cuarta reunión de comité operativo de la norma, solicito a usted tenga a bien, entregar copia de los convenios (vigentes y en trámite) suscritos con alguna de las otras autoridades competentes de fiscalización vinculada a dicho Decreto.

Tal información será de utilidad para revisar el capítulo de fiscalización del actual Decreto, considerando la información contenida en dichos convenios y poder analizar las situaciones de duplicidad de competencias.

Esperamos que dicha información nos pueda ser enviada lo antes posible con el propósito de poder trabajar en conjunto y concluir la nueva propuesta en relación a este punto.

Saluda atentamente a Usted.

HANS WILLUMSEN ALENDE
JEFE DEPARTAMENTO CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN
COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE



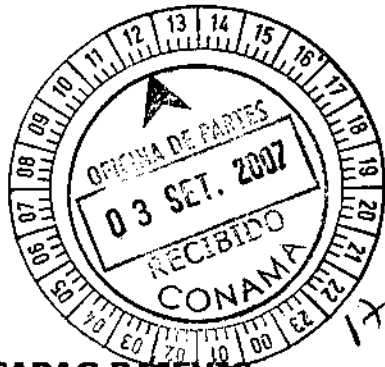
GOBIERNO DE CHILE
COMISION NACIONAL
DEL MEDIO AMBIENTE

Distribución:

- Nancy Cepeda. Encargada de Unidad de Normas, Superintendencia de Servicios Sanitarios.
- Christian Cid M., Capitán de Fragata, Dirección General de Territorio Marítimo y Marina Mercante.
- Carolina Ripa. Departamento de Salud Ambiental, Ministerio de Salud.

Cc.:

- Departamento Control de la Contaminación, CONAMA.
- Expediente Norma.



Santiago, 31 de agosto de 2007.

Señor
ALVARO SAPAG RAJEVIC
Director Ejecutivo
Comisión Nacional del Medio Ambiente
Presente

Estimado Señor Sapag:

En relación al "Proceso de revisión norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales DS N° 90", hacemos llegar a Ud. los siguientes antecedentes:

1.- En relación a la fiscalización: hoy el DS 90 reconoce en la SISS, Directemar y Servicios de Salud, según corresponda, la fiscalización del cumplimiento de la norma.

Al respecto sería conveniente incorporar en forma explícita la facultad de delegar dicha fiscalización en instituciones pertinentes como es el caso del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en el caso del sector lácteo, ya que tienen un mayor conocimiento de las características del sector y una interacción más permanente con sus distintos actores a lo largo del país.

Si bien en la actualidad la fiscalización ha sido "encargada" al SAG creemos conveniente que quede en forma explícita porque las autoridades pueden cambiar y por lo tanto también los criterios para delegar.

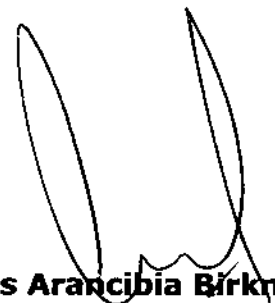
2.- En relación a las muestras: en la actualidad existen caracterizaciones de los residuos líquidos generados por las explotaciones lecheras, que indican, al hacer la comparación con las distintas tablas presentes en el DS 90, que los siguientes elementos se encuentran presentes:

- Nitrógeno Total
- Fósforo Total
- Cobre Total
- Hierro Total
- Manganeso total
- Zinc Total
- Aluminio Total
- DBO₅

- **Coliformes fecales**
- **Sólidos suspendidos totales**
- **Sólidos sedimentables**

Dado el alto costo que puede implicar el tener que cumplir con los requisitos de muestreo y análisis para todos los elementos mencionados en la Tablas del Decreto, estimamos aconsejable incorporar un comentario que en aquellos casos que exista una caracterización de los residuos como es el caso de los purines que son relativamente similares, y que esta caracterización sea realizada por una institución independiente como puede ser una universidad o centro o instituto de investigación, sólo se daba hacer análisis para aquellos elementos de común existencia en los residuos líquidos y se elimine la obligación de hacer análisis para los demás.

Sin otro particular, le saluda atentamente



Carlos Arancibia Birkner
Gerente
FEDELECHE F.G.



Corporación Nacional del Cobre

Casa Matriz
Huérfanos 1270
Casilla 834 0424
Santiago, Chile

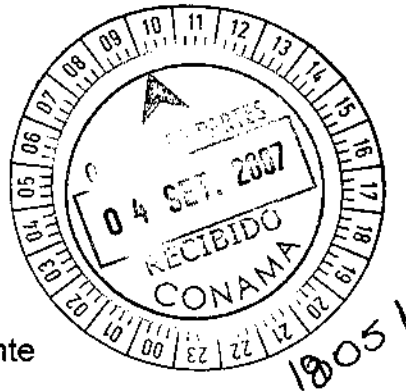
Fax: 690 3059
www.codelco.com

090408

Santiago, 31 de agosto de 2007

GAES-044

Señor
Alvaro Sapag R.
Director Ejecutivo
Comisión Nacional del Medio Ambiente
Presente



Ref.: Antecedentes sobre molibdeno y sulfatos
Para proceso de revisión del D.S. N°90.

Estimado señor Sapag:

En el contexto del proceso de revisión de la Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales, contenida en el D.S. N° 90/00 MINSEGPRES, adjunto encontrará un documento que contiene una breve análisis de los posibles riesgos ambientales de la presencia de molibdeno y sulfato en cuerpos de agua, tanto en la salud humana, como en ecotoxicidad acuática y sobre cultivos.

Quedamos a su disposición para cualquier requerimiento de información adicional.

Saluda atentamente a Ud.,


Fernando Toledo T.
Gerente Corporativo de Asuntos
Externos en Sustentabilidad

cc. Hans Willumsen

Un Breve Análisis de Posibles Riesgos Ambientales de la Presencia de Molibdeno y Sulfato en Cuerpos de Agua

Se analizan diversos aspectos del riesgo ambiental asociado a los parámetros molibdeno y sulfato en el contexto de normas de emisión para residuos industriales líquidos.

1. Molibdeno

Es importante señalar primero que el molibdeno (Mo) es un elemento natural y micronutriente esencial para plantas y animales. De hecho, diversas entidades abocadas al tema de la nutrición humana recomiendan una ingesta diaria mínima (Recommended Daily Allowance) de molibdeno (50-150 microgramos/día en promedio).

Algunas de las reacciones biológicas en que se ha demostrado la participación del Mo son: reducción de nitrógeno y nitrato en plantas, e hidroxilación de purinas y aldehídos en animales. En este último caso, el nivel de actividad de la xantina oxidasa puede ser regulado por la concentración de Mo. También es crítico para la actividad de la enzima sulfito oxidasa, que oxida el grupo sulfito a sulfato. La deficiencia de actividad de esta enzima causa un severo síndrome neurológico que puede llevar a retardo mental y muerte. Fue precisamente un caso de deficiencia genética del cofactor (molibdopterina) de esta enzima lo que permitió identificar esta función metabólica del Mo.

Si bien es un hecho conocido que un micronutriente en exceso puede también causar efectos adversos, es importante subrayar la condición natural y de micronutriente de algunos elementos químicos de la tabla periódica, para destacar la diferencia crítica de éstos con los compuestos químicos sintéticos, diferencia que es relevante tanto para considerar cómo los organismos lo metabolizan como para desechar opciones normativas extremas (e.g., su eliminación del medio ambiente).

Molibdeno: Salud humana

Como lo señala el estudio de la Food and Nutrition Board y del Institute of Medicine de los EEUU, adjunto en Anexo 2: "Los compuestos de molibdeno parecen tener baja toxicidad en seres humanos." Y más adelante: "...los datos existentes no permiten identificar una relación causal entre una ingesta excesiva de molibdeno en individuos saludables, aparentemente normales y ninguna consecuencia adversa de salud." Debido a la escasez de estudios en que se observe algún efecto tóxico del molibdeno en la dieta, los autores deciden basar la derivación de un NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) en un estudio de efectos reproductivos en ratas. El NOAEL así derivado es de 0,9 mg/kg/día, es decir que una persona de 70 Kg que ingiriera 60 mg de molibdeno al día estaría aún bajo el NOAEL (por ejemplo, para alcanzar esta ingesta bebiendo agua de la descarga del Tranque Carén, con 2 mg/L de molibdeno, una persona debería tomar unos 30 litros de agua por día). Para derivar un nivel superior de ingesta tolerable (un UL) los autores dividen este valor por un factor de 30, llegando a un valor de UL de alrededor de 2 mg/día para una persona promedio. Este valor debe ser considerado a la luz del criterio por el cual se derivó: efectos reproductivos estadísticamente significativos en ratas de laboratorio sometidas a una dieta sobrecargada de molibdeno.

Molibdeno: Ecotoxicidad acuática

En el Anexo 4 se presenta una evaluación de la información existente sobre toxicidad crónica de molibdeno para organismos acuáticos, realizada por la empresa consultora europea EURAS para la Asociación Internacional del Molibdeno (IMO). EURAS es una empresa con un gran prestigio en la Unión Europea, y el informe presentado ha sido entregado a autoridades regulatorias

europas en el contexto de la derivación de criterios de calidad para molibdeno en agua dulce. El informe revisa, bajo estrictos criterios de calidad, publicaciones en que se midió la toxicidad crónica de molibdeno para diversos taxa acuáticos, y deriva un NOEC (concentración a la que no se observa efecto tóxico crónico) de 3,4 miligramos por litro (o 3.400 microgramos/litro; ver página 6 del documento). Nótese que este nivel es más alto que el nivel máximo exigido por el D.S. 90 para molibdeno (1 mg/L, tabla para cuerpos fluviales sin capacidad de dilución). También es importante observar que los valores de NOECs revisados en el informe fluctúan entre un mínimo de 4,3 mg/L y un máximo de hasta 750 mg/L, es decir cerca de 1 gramo de molibdeno por litro. Son escasos los elementos metálicos que exhiban niveles tan bajos de toxicidad acuática.

Esta observación es plenamente consistente con el bajísimo nivel de toxicidad acuática detectado en la descarga del Embalse Carén, que se caracteriza por niveles elevados de molibdeno y sulfato. En particular, explica el resultado, aparentemente sorprendente, del estudio de toxicidad de efluente completo sobre *Daphnia* realizado por el Laboratorio de Metales Traza del CIMM (ver extracto en Anexo 5 y sección sobre sulfato para mayor detalle) que encontró cero mortalidad para ensayos en el efluente del Embalse Carén sin dilución (o sea, cuando el medio de ensayo era efluente puro).

Nuestra conclusión es que, en este aspecto también, el molibdeno es un elemento de muy bajo nivel de toxicidad.

Molibdeno: Plantas de cultivo y toxicidad secundaria

Como ya lo indicamos, el Mo es esencial para las plantas, y su deficiencia provoca una diversidad de efectos fenotípicos, asociados generalmente a actividad reducida de molibdoenzimas. El efecto de la deficiencia puede también ser indirecto, e.g. asimilación reducida de nitrógeno por las bacterias del suelo. Suelos deficientes en molibdeno puede ser remediados con adición de molibdato de sodio. El Anexo 6 contiene una revisión de este tema publicada en 2005 en *Annals of Botany*.

Sin duda el efecto adverso más estudiado del molibdeno es el que tiene en la condición conocida como molibdenosis. La molibdenosis es fundamentalmente una deficiencia nutricional de cobre inducida por molibdeno (también llamada hipocuprosis secundaria) que ocurre en animales rumiantes expuestos a una tasa elevada de molibdeno respecto a cobre en los contenidos dietarios. Esta razón elevada normalmente deriva de la alimentación con forraje crecido en suelos con una razón Mo/Cu similarmente alterada, generalmente suelos deficientes en cobre y/o impactados por niveles relativamente elevados de Mo. Dependiendo de una diversidad de factores, los síntomas de la hipocuprosis secundaria pueden incluir: baja del rendimiento de producción y crecimiento, disminución del apetito, disminución de la producción de leche, infertilidad. Una forma común de tratamiento es la administración oral de sales minerales, en particular sales de cobre.

Es muy improbable que la molibdenosis se de en animales alimentados con forraje proveniente de suelos con razones normales de Cu/Mo (2:1 o más), situación frecuente de los suelos en Chile. Por ejemplo, en la zona del Estero Carén, donde se ha vertido un efluente con niveles elevados de Mo por casi dos décadas, nunca se ha verificado un caso de molibdenosis, incluso en una situación experimental en que se buscó inducir el desbalance Cu/Mo a través del forraje y el agua de bebida (ver lista de estudios en Anexo 1).

2 Sulfato

Los sulfatos son la porción aniónica de diversas sales, en que el grupo SO₄ va acompañado de un catión (sodio, calcio, magnesio, cobre, etc.) También en este caso es importante señalar, aunque parezca obvio para los expertos, que en general las sales en base a sulfato son compuestos que pueden tener origen natural, y que los organismos vivos han estado expuestos a ellas desde siempre. De hecho, como lo indicamos en la sección sobre Mo, los sulfatos son intermediarios

esenciales en el metabolismo de componentes biológicos sulfurados, y su deficiencia puede ser letal.

00411

Sulfato: Salud humana

El Anexo 3 contiene el capítulo correspondiente a sulfato de las Directrices de la OMS para agua potable. Nos interesa el siguiente párrafo, de las Conclusiones:

"Los datos existentes no identifican un nivel de sulfato en agua potable que pueda tener efectos adversos para la salud humana. Los datos del estudio en lechones y de estudios en agua de llave con voluntarios humanos indican un efecto laxante a concentraciones de 1000-1200 mg/litro, pero sin aumento en incidencia de diarrea, deshidratación o pérdida de peso. La presencia de sulfato en el agua de bebida también puede provocar un sabor detectable; el umbral inferior de sabor para sulfato es aproximadamente 250 mg/litro para la sal de sodio. El sulfato también puede contribuir a la corrosión de los sistemas de distribución.

A la luz de estos antecedentes, no se propone un valor guía sobre la base de efectos de salud. Sin embargo, existe una probabilidad creciente de quejas asociadas a mal sabor a medida que la concentración en agua supere los 500 mg/litro."

Es evidente que, desde el punto de vista de la salud humana, el sulfato no es un toxicante de relevancia. Primero, es improbable que alguien beba agua con cantidades elevadas de sales de sulfato, debido a su gusto salino. Segundo, en el caso que ello ocurra el sulfato sólo inducirá efectos gastrointestinales agudos y reversibles.

Sulfato: Ecotoxicidad acuática

Hasta donde sabemos no existen estudios de toxicidad del sulfato para vida acuática. Esto probablemente se debe a la dificultad de diseñar ensayos toxicológicos que permitan distinguir entre efectos del sulfato y los de la porción catiónica de la sal.

En 2001, el Ministerio de Minería encargó al Laboratorio de Ecotoxicología de Metales Traza del CIMM el estudio titulado "Descargas Al Ambiente De Aguas De La Minería: Evaluación Químico Ecotoxicológica De Las Aguas Claras De Relave". En este estudio se realizaron ensayos ecotoxicológicos de efluente completo utilizando *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*, organismos invertebrados de agua dulce clásicamente usados en ensayos toxicológicos en agua. En los ensayos de efluente completo, se exponen los organismos a medios preparados con el efluente del Embalse Carén (con niveles elevados de Mo y sulfato) diluido en diversos grados con agua de laboratorio. Tras 48 horas de exposición, se cuenta el número de especímenes muertos. Como se aprecia en el Anexo 6, no se encontró mortalidad significativa en ninguno de los ensayos, incluyendo aquellos con muestras de efluente del Embalse Carén sin diluir. Los niveles de sulfato alcanzaban las 1500 ppm en algunas muestras. Este resultado claramente indica que Mo y sulfato son elementos de baja toxicidad para organismos acuáticos sensibles. Debe tenerse en cuenta que en los ensayos de efluente completo no sólo se evalúa el efecto tóxico de cada componente por separado, sino sus efectos aditivos o, incluso, sinérgicos.

Sulfato: Plantas de cultivo

Todos los compuestos salinos tienen un impacto sobre las plantas que se cultiven en suelos impactados por ellos. Este efecto, más que un efecto tóxico propiamente tal, es uno de tensión osmótica: las plantas deben gastar energía en absorber agua desde la solución salina que la rodea en el suelo. A este efecto contribuyen todas las sales presentes en el suelo. El efecto total es medido por la conductividad eléctrica.

Por esta razón, las normativas sobre calidad de suelos para uso agrícola generalmente regulan los niveles de salinidad en éstos, pero con un nivel importante de flexibilidad. Por ejemplo, si bien la NCh 1333 establece un límite de 250 mg/L para sulfato, más adelante clasifica las aguas de riego según sus usos, indicando que agua con conductividad eléctrica entre 1500 y 3000 $\mu\text{mho}/\text{cm}^2$ corresponde a "agua que puede tener efectos adversos en muchos cultivos y necesita de métodos de manejo cuidadosos." Un efluente con altos niveles de sulfato, como el del Embalse Carén en la VI Región, presenta conductividades en torno a 2500-3000 $\mu\text{mho}/\text{cm}^2$. Sin duda no es recomendable usar estas aguas para riego agrícola, pero la Norma admite que se pueden usar bajo determinadas condiciones. De hecho, en la zona del Embalse Carén, algunos agricultores hacen uso ocasional de estas aguas desde hace dos décadas.

El caso del Efluente Carén

El Anexo 1 lista, con un breve resumen, todos los estudios que la División El Teniente ha encargado realizar en torno a diversos aspectos de posible impacto de la descarga del Embalse Carén en la cuenca del mismo nombre. De estos se pueden extraer las siguientes conclusiones generales:

- I. En estudios de seguimiento de diversos cultivos regados con aguas del efluente, no se detectaron diferencias significativas de productividad.
- II. En experiencias controladas sobre el uso de la descarga como agua de bebida de animales, tampoco se encontraron efectos tóxicos relevantes.
- III. Diversos estudios sobre la ecotoxicidad del efluente tampoco han encontrado ninguna evidencia de este tipo de efecto en la cuenca.

Toda esta evidencia empírica recolectada en una cuenca en que hay actividades humanas de distinto tipo respalda la afirmación que niveles elevados de molibdeno y sulfato en agua representan un riesgo ambiental relativamente menor.

Anexo 1

Resúmenes Ejecutivos de Estudios Científicos Encargados por División El Teniente en Relación al Efluente Carén

1) Informe de Trabajo Referente a Mortandad de Peces en Lago Rapel. Cima Consultores Ltda. 1989.

Se trata de un Informe muy breve y de tipo cualitativo, que describe la mortandad de peces ocurrida en el Embalse Rapel en 1989. Sobre la base de inspección ocular del fenómeno, su extensión y ubicación, concluye que el fenómeno no está relacionado con el efluente Carén. También hace un argumento en el sentido que el estero Carén ha creado un ecosistema mucho más rico que el pre-existente en la zona. No presenta información cuantitativa.

2) Observaciones Hidrobiológicas Realizadas en el Embalse Rapel entre el 19 y el 27 de Junio de 1990 (presentado a Corema VI Región). Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte. 1990.

Se trata de un Informe enfocado en la mortandad de peces ocurrida en Emb. Rapel en Junio de 1990. Proporciona una fotografía hidrográfica, química y biológica del área afectada inmediatamente después de ocurrido el fenómeno. Desde el punto de vista químico, no detecta variaciones que permitan explicar el fenómeno en ningún punto del Embalse. Los análisis cuantitativos y cualitativos de fitoplancton y zooplancton sugieren la posibilidad de un florecimiento microalgal relacionado con la mortandad. Los análisis de contenido de metales en tejidos de peces no indican intoxicación por metales. En definitiva el estudio no logra identificar la posible causa de la mortandad.

3) Impacto Ambiental de los Efluentes del Embalse Carén. Informe Final. Universidad Católica del Norte, Sede Coquimbo. 1990.

Los objetivos de este estudio fueron:

- Caracterizar fisicoquímicamente el área del Emb. Rapel afectada por el efluente Carén: datos de composición química de aguas en efluente y embalse.
- Caracterizar el área en términos de estructura de comunidades biológicas. Datos de composición de especies, incluyendo fitoplancton, zooplancton, ictiofauna, avifauna y fauna bentónica.
- Evaluar el efecto de los contaminantes de interés en las especies consideradas claves. Ensayos de toxicidad con bacterias, Daphnia y pejerrey chileno, para cobre y otros metales.

La conclusión central del estudio es que la información recolectada "...no permite detectar un impacto cualitativamente importante de las aguas claras en el sistema Carén Alhué..." desde un punto de vista biológico.

4) Uso Agropecuario de Aguas Efluentes Embalse Carén. Estación Experimental Agropecuaria Hacienda Loncha. Informe Final. CICA Ingenieros Consultores. 1991.

Informe de 4 años del estudio realizado en la Hacienda Loncha, utilizando aguas claras para riego, enfocado a estudiar el comportamiento de metales (Cu, Mo, Mn y Zn) contenidos en las aguas claras, al ingresar al sistema agropecuario, con énfasis en suelos y tejidos vegetales. En resumen concluye:

- Cobre. Bajo nivel en aguas y niveles normales en suelos y tejidos. No es una limitante para el uso como agua de riego.
- Molibdeno. Baja movilidad en suelos, acumulándose en perfil superficial. Leguminosas presentan un grado de acumulación, pero no hay signos de toxicidad ni efectos sobre crecimiento.
- Manganeso y Zinc. Niveles normales, no es un limitante.
- Sulfato. Fácilmente lixiviado en columna de suelo. No hay efectos tóxicos o efectos sobre crecimiento, pero se reconoce como posible parámetro crítico por salinización. El estudio recomienda control de pH y Conductividad Eléctrica.

Presenta un amplio cuerpo de datos.

5) Uso Agropecuario del Agua del Efluente del Embalse de Relaves Carén 1987-1992. CICA Ingenieros Consultores. 1992.

Este es el informe de 5 años de estudios en la Hacienda Experimental Loncha. Se presentan resultados de:

- Características fisicoquímicas del agua de relave usada para riego.
- Influencia del agua clara en suelos: ensayos de terreno y laboratorio (columnas)
- Influencia del agua clara en vegetales (cultivos, vides y frutales, hortalizas).
- Influencia en animales (ovinos, bovinos, conejos): alimentación con vegetales regados con aguas claras (leguminosas y gramíneas); agua clara para bebida de animales.

Las conclusiones más relevantes:

- Molibdeno. Baja movilidad en suelos, acumulándose en perfil superficial. Leguminosas presentan un grado de acumulación, pero no hay signos de toxicidad ni efectos sobre crecimiento.
- Sulfato. Fácilmente lixiviado en columna de suelo. No hay efectos tóxicos o efectos sobre crecimiento, pero se reconoce como posible parámetro crítico por salinización. El estudio recomienda control de pH y Conductividad Eléctrica.
- Aumento de Mn en efluente debe monitorearse.
- En general no hay efectos nocivos del agua clara sobre especies regadas con ella.
- Se recomienda continuación de serie de mediciones.

6) Evaluación de Impacto Ambiental Embalse Carén. Informe Final. Dames & Moore. 1992.

Los objetivos de este estudio fueron:

- Actualizar información sobre criterios de calidad de agua para riego.
- Revisión de Informes existentes a la fecha de Hacienda Experimental Loncha (CICA) y de Facultad de Ciencias de Mar de Universidad Católica del Norte (impacto en Emb. Rapel).
- Evaluación de efecto socioeconómico del embalse y efluente.

El Informe identifica efectos positivos y potenciales efectos negativos del embalse en diversos aspectos de la cuenca. Entre ellos:

- El Embalse impide inundaciones periódicas que afectaban la zona y asegura disponibilidad de riego durante todo el año.
- Evaluación positiva de resultados agropecuarios en hacienda experimental (riego y bebida de animales).
- Desarrollo de vida acuática en toda la cubeta del embalse.
- No existe una contaminación ambiental severa.
- Identifica posible riesgo de acumulación de molibdeno en suelos.
- Destino de sulfatos incierto: podrían contaminar napas o reducirse a sulfuros.

Presenta vasto cuerpo de datos y gráficos recopilados.

7) Impacto Ambiental de los Efluentes del Embalse Carén. Informe Final Segunda Etapa. Universidad Católica del Norte, Sede Coquimbo. TOMOS I y II. 1992.

Este Informe cubre aspectos casi idénticos al del Informe Final Primera Etapa (ver N° 3) para el período 1991-1992, sobre el posible impacto del efluente Carén sobre la cubeta Alhué del Embalse Rapel y áreas cercanas. El Tomo I presenta resultados de estudios de contenido metálico en diversas especies; datos toxicológicos de efluente completo en *Daphnia* y bacterias y otros antecedentes sobre componentes específicos del ecosistema. El Tomo II está fundamentalmente centrado en zooplancton, su composición comunitaria, variaciones estacionales...etc. Su conclusión es que para el período estudiado "...se puede concluir que no existe una severa contaminación ambiental, no encontrándose variables críticas que tengan efectos tóxicos o de alteración significativa en el desarrollo de una especie animal o vegetal." Realiza una serie de recomendaciones para la continuidad del monitoreo de componentes bióticos del sistema.

8) Uso Agropecuario del Agua Efluente del Embalse de Relaves Carén. CICA Ingenieros Consultores. 1995. (Para la Dirección General de Aguas).

Presenta los resultados de 8 años de estudios en la Hacienda Experimental Loncha (ver también N° 5). Aborda los siguientes aspectos:

- Revisión bibliográfica de efectos de molibdeno y sulfatos.
- Un modelo de absorción de Mo por plantas de alfalfa desde el suelo y agua de riego.
- Una evaluación de sistema agrícola desde el punto de vista de la acumulación de Mo en follaje de plantas de cultivo con una amplia discusión del tema Mo, bioacumulación y molibdenosis.
- Pruebas de sorción en columnas de lixiviación con suelos y en vegetales.
- Evaluación de rangos y umbrales de Mo en aguas de riego.
- Análisis de resultados para sistema pecuario: rumiantes y monogátricos (agua de bebida y alimentación con plantas regadas con agua clara).
- Estudios en cobayos.

Sus conclusiones más importantes:

- Es posible usar aguas claras de relave con niveles de Mo entre 0.4 y 0.5 ppm en agricultura y cosechar tejido foliar con niveles normales del elemento.
- No se producen alteraciones productivas en animales (ruminantes y monogátricos) sustentados con heno de alfalfa regada con efluentes (13 ppm de Mo) y una relación Cu/Mo < 2.
- No se observó hipocuprosis como producto con dietas con razones Cu/Mo entre 1.4 y 10.6.
- El límite de la Norma de Riego para Mo de 0.01 ppm no representa el límite real permisible para el sistema agrícola de Loncha y, probablemente, para ningún sistema agropecuario del país.

Presenta un vasto cuerpo de información cuantitativa.

9) Estudios Complementarios del Sistema Hidrobiológico del estero Carén. Parte I: Modelación, Informe Final. Centro EULA Chile, Universidad de Concepción. 1996. (Solicitado por DGA).

Primero de tres volúmenes que contienen los resultados de un estudio sobre los efectos de las aguas claras de Carén sobre la calidad de agua del Embalse Rapel. En este volumen se describe la metodología empleada y, en particular la modelación matemática del sistema hidrológico. Conclusiones:

- El Embalse recibe carga de sólidos finos, Fe casi exclusivamente de Cachapoal y Tinguiririca.
- Carga de Cu y Mn casi exclusivamente de Cachapoal.
- Carga de sulfatos: un tercio aportada por el estero Carén-Alhué.
- Carga de Mo mucho menor y casi toda originada en Alhué-Carén.
- Cu y Fe se estarían yendo principalmente a sedimentos, lo que es favorecido por aporte de sulfatos.
- Ecotoxicológicamente, el único riesgo potencial (pero no actual) lo representa el Cu en las aguas del Embalse, originado en los Ríos Cachapoal y Tinguiririca.
- Por último, no hay elementos objetivos que sustenten la necesidad de interrumpir la descarga de los relaves al Embalse Rapel.
- Estas conclusiones tienen como limitante el que corresponden a un año específico de monitoreo.

10) Estudios Complementarios del Sistema Hidrobiológico del estero Carén. Parte I: Ecotoxicología, Informe Final. Centro EULA Chile, Universidad de Concepción. 1996. (Solicitado por DGA).

Se realizaron estudios de ecotoxicología de efluente completo con aguas de diversas partes del Embalse Rapel, así como del efluente Carén mismo, con algas (*Selenastrum* sp.), invertebrados (*Daphnia* sp.) y peces (*Oncorhynchus* sp.). Las conclusiones:

- Aguas de fondo de Embalse no presentan toxicidad aguda ni crónica para algas ni invertebrados, por el contrario se observó un leve efecto estimulador de crecimiento y reproducción. En peces se obtuvo 100% de sobrevivencia en todas las pruebas.
- Ensayos de toxicidad con sales agregadas de metales mostraron toxicidad mayor de Cu y Zn y menor de Mn y Mo.
- Se estima que en el Embalse el elemento de mayor potencial riesgo ecotoxicológico sería el Cu.
- No se detectaron problemas para las especies estudiadas que pudieran ser atribuidos a las descargas de aguas claras de Carén.

11) Estudios Complementarios del Sistema Hidrobiológico del estero Carén. Parte I: Limnología, Informe Final. Centro EULA Chile, Universidad de Concepción. 1996. (Solicitado por DGA).

Contiene una completa caracterización morfométrica, hidrológica, hidrodinámica y meteorológica del Embalse, que junto con la información ecotoxicológica, sirve para realizar el modelo hidrológico contenido en el primer volumen.

12) Primera Etapa Modelo de Simulación Carén y Alhué. Versión 1.0. Ingeniería y Geología Dos Ltda. CICA Ingenieros Consultores. 1996.

Evaluación de modelos de simulación de acuíferos subterráneos y transporte de contaminantes para posterior estimación de riesgo de contaminación de acuíferos con componentes de efluente Carén.

13) Segunda Etapa Modelo de Simulación Carén y Alhué. Versión 1.0. Ingeniería y Geología Dos Ltda. CICA Ingenieros Consultores. 1996.

Uso de los modelos evaluados en informe anterior (Nº 12) para desarrollar simulaciones en tres perfiles o vistas con los objetivos siguientes:

- Perfil Riego: evaluar efecto de riego de cultivos en Loncha con agua clara y movimiento de sulfato y molibdeno en superficie no saturada.
- Perfil Longitudinal: evaluar efecto de aguas de Estero Carén y movimiento de SO₄ y Mo en acuíferos subterráneos.
- Vista Plana: evaluar extensión lateral de SO₄ y Mo en acuíferos del valle.

Información necesaria para modelos se obtuvo de estudios parciales, perforaciones y pruebas de bombeo. Se consideraron fenómenos de advección, dispersión y adsorción. Los escenarios específicos simulados arrojaron los siguientes resultados:

- De acuerdo a los resultados del Perfil Longitudinal y Vista Plana el movimiento de SO₄ y Mo mostró avances en el sentido vertical, por debajo del Estero Carén, de 12 m para SO₄ en 100 años, para un frente de 250 ppm; y 4 m para 100 años para Mo con un frente de 0.1 ppm.
- La Vista Plana arrojó movimientos laterales para SO₄ del orden de 30 m, para entre 10 y 20 años, laterales máximos de 190 m para 100 años. Para Mo, el avance lateral máximo fue de 40 m para 100 años, para un frente de 0.1 ppm.

En todo caso, el número de escenarios simulado fue limitado por el gran consumo de tiempo de computación de las simulaciones. El Informe no se refiere a evaluaciones de riesgo.

14) Investigación Conducida por Codelco-Chile, División El Teniente, para Evaluar el Impacto del Uso de Agua del Embalse de Relaves de Cobre de Carén para un Riego Agronómico Ambientalmente Sustentable. 1987-1996. Informe de Auditoría Científica. L. D. Bailey. 1996.

Informe de Auditoría de estudios de Hacienda Loncha realizado por Dr. L.D. Bailey del Centro de Investigación de Agricultura y Agrícola-Alimenticia de Canadá. La evaluación del Dr. Bailey es muy positiva en todos los aspectos que cubren los estudios, tanto desde el punto de vista de su calidad científica como de su relevancia en resolver que las aguas claras son apropiadas para un uso agropecuario.

15) Mortandad y Varazón de Peces en el Lago Rapel. Informe Técnico. CICA Ingenieros Consultores. 1999.

Informe técnico sobre la mortandad de peces ocurrida en el Embalse Rapel en julio de 1999. Para distintos puntos del Embalse se presentan resultados de: análisis químico-físico de agua; oxígeno disuelto y temperatura; metales pesados; sales solubles y conductividad eléctrica; pH, y análisis químico de tejidos de peces. Concluye que no hay evidencia que permita establecer un nexo causal entre el fenómeno y el aporte del efluente Carén, aunque no pueden descartarse efectos subletales a largo plazo. Del análisis del cuerpo integral de datos presentado sugiere que la mortandad podría deberse a una disminución momentánea de los niveles de oxígeno en algunas áreas del embalse, causada por una combinación de causas.

16) Análisis Global sobre la Mortandad de Peces en Embalse Rapel. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica de Chile. 1999.

Resúmen de resultados de estudios encargados por El Teniente en relación a los fenómenos de mortandad de peces realizado para presentarse ante los organismos del Estado de la VI Región con competencia ambiental en Agosto de 1999. Contiene misma información resumida en N° 1 y 15 de esta lista.

17) Uso de Aguas Claras de Relave del Embalse Carén en el Sistema Agropecuario. Resumen de la Investigación. CICA Ingenieros Consultores. Sin fecha. Texto y Power Point.

Resumen muy suscito de resultados de estudios en Hacienda experimental Loncha.

Anexo 2

EXTRACTO DE: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2000); Food and Nutrition Board; Institute of Medicine

“Adverse Effects

Molybdenum compounds appear to have low toxicity in humans. More soluble forms of molybdenum have greater toxicity than insoluble or less soluble forms. The UL applies to all forms of molybdenum.

There are limited toxicity data for molybdenum in humans; most of the toxicity data are for animals, especially ruminants. Ruminants are more sensitive to molybdenum than monogastric animals, but the basis for the toxicity of molybdenum in ruminants is not relevant for humans. In monogastric laboratory animals, molybdenum has been associated with reduced growth or weight loss, renal failure, skeletal abnormalities, infertility, anemia, diarrhea, and thyroid injury (Vyskocil and Viau, 1999). Since none of these effects have been observed in humans, it is impossible to determine which ones might be considered most relevant to humans.

Molybdenum toxicity in animals varies according to age, species, sex, and duration of exposure (Vyskocil and Viau, 1999). In ruminants, the relative amounts of copper and sulfur in the diet are also important determinants of toxicity (Rajagopalan, 1988), but the effect of molybdenum on copper metabolism in humans is not significant (Turnlund and Keyes, 2000). The data on adverse effects of molybdenum intake are summarized below.

Renal Failure. Mild renal failure has been observed in rats after subchronic ingestion (by gastric intubation) at 80 mg/kg/day but not at 40 mg/kg/day of a molybdenum salt (Bompart et al., 1990).

There is weak evidence of diuresis and proteinuria after high dose molybdenum intake in animals (Bompart et al., 1990). Asmangulyan (1965) evaluated the effects of molybdenum in rabbits receiving four different oral doses (0.025, 0.5, 5, and 50 mg/kg/day) for 6 months. At a dose of 5 mg/kg/day, histological changes were observed in kidney and liver along with body weight loss. No effects were observed at lower molybdenum dosage levels.

Increased Uric Acid in Plasma and Urine. Key human studies on this endpoint include Chappell and coworkers (1979), Deosthale and Gopalan (1974), and Kovalsky and coworkers (1961). Kovalsky and coworkers (1961) observed hyperuricemia and arthralgias in Armenians who consumed 10 to 15 mg/day of molybdenum from food. Serum molybdenum concentration was positively correlated with serum uric acid concentration. Elevations in blood molybdenum concentrations were accompanied by decreases in blood copper concentrations. However, serious methodological difficulties are noted with this particular study including possible analytical problems in the assessment of blood and urinary copper levels and the very small size of the control group in contrast to the molybdenum-exposed group.

Other studies in humans do not support the existence of this particular adverse manifestation in association with elevated dietary intakes of molybdenum. For example, Chappell and coworkers (1979) reported reduced uric acid concentrations in serum after molybdenum intakes of greater than 7 µg/kg/day from drinking water. Deosthale and Gopalan (1974) reported no change in uric acid excretion at intakes up to 1.5 mg/day in four volunteers.

Impaired Copper Utilization. Impaired utilization of copper has been observed in ruminants (Mills and Davis, 1987) and is based on an interaction between molybdenum, copper, and sulfur that occurs in ruminants but not in humans. A human study involving doses up to 1.5 mg/day showed no adverse effects on copper utilization (Turnlund and Keyes, 2000).

Reproductive Effects. The administration of supplemental dietary molybdenum was associated with a prolonged estrus cycle, decreased gestational weight gain of the pups, and several adverse effects on embryogenesis in female Sprague-Dawley rats (Fungwe et al., 1990). These effects were not observed at 0.9 mg/kg/day, but were observed at doses of 1.6 mg/kg/day (based on a gestational weight of 100 g). Schroeder and Mitchener (1971) evaluated the effect of molybdate in drinking water (10 mg/L) on the reproduction of mice over three generations. Because water consumption was not reported in the publication, daily molybdenum intake can only be estimated. Vyskocil and Viau (1999) estimated that a 20-mg mouse's consumption of 3 mL

of water (10 mg/L) daily would result in a dose of 1.5 mg/kg/day of molybdenum. At this dose, Schroeder and Mitchener (1971) reported some early deaths of offspring, dead litters, maternal deaths, and failure to breed.

Other Endpoints. There is no evidence that molybdenum causes cancer in humans or animals (Vyskocil and Viau, 1999). There are consistent findings of decreased hemoglobin concentration and hematocrit in rabbits (Arrington and Davis, 1953; McCarter et al., 1962; Ostrom et al., 1961; Valli et al., 1969). These effects were seen at doses of 25 mg/kg/day or more.

Growth depression has been noted in several studies with monogastric laboratory animals (Arthur, 1965; Jeter and Davis, 1954; Miller et al., 1956). In the study by Jeter and Davis (1954), rats were administered four different doses of molybdenum (20, 80, 140, and 700 mg/kg of diet) for 13 weeks. Growth depression was noted in female rats fed 80 mg/kg, which according to Vyskocil and Viau (1999), corresponds to 8 mg/kg/day of molybdenum. Miller and coworkers (1956) observed body weight loss and bone deformities in rats fed 75 and 300 mg/kg of diet molybdenum for 6 weeks. The lowest dose corresponds to 7.5 mg/kg/day according to Vyskocil and Viau (1999). Arthur (1965) fed guinea pigs diets containing various levels of molybdenum for 8 weeks. At the lowest dose (estimated to be 75 mg/kg/day), growth depression, loss of copper, and achromotrichia were observed.

Bioavailability and Toxicokinetics. Possible reasons for the presumed low toxicity of molybdenum include its rapid excretion in the urine, especially at higher intake levels (Miller et al., 1956; Turnlund et al., 1995b).

Summary

Because of the deficiencies in the study conducted in Armenia (Kovalsky et al., 1961), inadequate data exist to identify a causal association between excess molybdenum intake in normal, apparently healthy individuals and any adverse health outcomes. In addition, studies have identified levels of dietary molybdenum intake that appear to be associated with no harm (Deosthale and Gopalan, 1974; Turnlund and Keyes, 2000). Thus, reproductive effects in rats were selected as the most definitive toxicological indices.

Dose-Response Assessment

Adults

Data Selection. In the absence of adequate human studies, animal studies were evaluated. Rats, mice, and rabbits appear to be more sensitive than guinea pigs to the adverse effects of dietary molybdenum. The effects of molybdenum on reproduction and fetal development in rats and mice were found to be the most sensitive and therefore were used to set the UL.

Identification of a No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) and Lowest-Observed-Adverse-Effect Level (LOAEL). The study of Fungwe and coworkers (1990) provides a dose-response relationship for adverse reproductive effects in female rats. The NOAEL from this study was 0.9 mg/kg/day and the LOAEL was 1.6 mg/kg/day of molybdenum. This study is supported by observations of reproductive effects in mice in a three-generation study at a single dose of 1.5 mg/kg/day (Schroeder and Mitchener, 1971). Since only one level was used in this study, it is difficult to use this study independently to determine a LOAEL. In addition, Jeter and Davis (1954) noted decreased fertility in male rats after 13 weeks of exposure to 8 mg/kg/day of molybdenum. The NOAEL from that study was 2 mg/kg/day. Taken together, these observations suggest that numerous adverse reproductive effects were encountered in rats and mice at dietary molybdenum levels exceeding the NOAEL of 0.9 mg/kg/day established from the study of Fungwe and coworkers (1990).

Uncertainty Assessment. There do not appear to be sufficient data to justify lowering the degree of uncertainty from the usual uncertainty factor (UF) for extrapolating from experimental animals to humans. Thus, the usual value of 10 was selected. A UF of 3 for intraspecies variation was based on the expected similarity in pharmacokinetics of molybdenum among humans. Although Vyskocil and Viau (1999) have argued for a larger UF for intraspecies differences, they have based their concerns on possible interactions with copper and concerns about copper-deficient humans. Recent information suggests that molybdenum does not have any effect on copper metabolism in humans (Turnlund and Keyes, 2000). Thus, these two UFs are multiplied to yield a UF of 30.

Derivation of a UL. The NOAEL of 0.9 mg/kg/day was divided by the overall UF of 30 to obtain a UL of 30 µg/kg/day for humans. The value of 30 µg/kg/day was multiplied by the average of the reference body weights

for adult women, 61 kg, from [Chapter 1 \(Table 1-1\)](#). The resulting UL for adults is rounded to 2 mg/day (2,000 µg/day).

$$\text{UL} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{UF}} = \frac{0.9 \text{ mg/kg/day}}{30} = 30 \text{ } \mu\text{g/kg/day} \times 68.5 \text{ kg} \cong$$

$$\mathbf{2 \text{ mg/day (2,000 } \mu\text{g/day)}}$$

Although adult men and women have different reference body weights, the uncertainties in the estimation of the UL were considerable and distinction of separate ULs for men and women was therefore not attempted. This level is supported by limited human data from Deosthale and Gopalan (1974) who demonstrated no effect on uric acid or copper excretion in humans exposed to 22 µg/kg/day or 1.5 mg/day for an adult. Only four subjects were included in that study and no LOAEL was established. In addition, Turnlund and Keyes (2000) demonstrated no effect of 1.5 mg/day on copper metabolism in humans.

Molybdenum UL Summary, Ages 19 Years and Older

UL for Adults

≥ 19 years **2 mg/day (2,000 µg/day) of molybdenum**

Other Life Stage Groups

Infants. For infants, the UL was judged not determinable because of insufficient data on adverse effects in this age group and concern about the infant's ability to handle excess amounts. To prevent high levels of intake, the only source of intake for infants should be from food and formula.

Children and Adolescents. There are no reports of molybdenum toxicity in children and adolescents. Given the dearth of information, the UL values for children and adolescents are extrapolated from those established for adults. Thus, the adult UL of 2 mg/day of molybdenum was adjusted for children and adolescents on the basis of relative body weight as described in [Chapter 2](#) with use of reference weights from [Chapter 1 \(Table 1-1\)](#). Values have been rounded down.

Pregnancy and Lactation. Because the UL is based on adverse reproductive effects in animals and because there are no reports of molybdenum toxicity in lactating women, the UL for pregnant and lactating women is the same as that for the nonpregnant and nonlactating female.

Molybdenum UL Summary, Ages 0 through 18 Years, Pregnancy, Lactation

UL for Infants

0–12 months Not possible to establish; source of intake should be from food and formula only

UL for Children

1–3 years 0.3 mg/day (300 µg/day) of molybdenum

4–8 years 0.6 mg/day (600 µg/day) of molybdenum

9–13 years 1.1 mg/day (1,100 µg/day) of molybdenum

UL for Adolescents

14–18 years 1.7 mg/day (1,700 µg/day) of molybdenum

UL for Pregnancy

14–18 years 1.7 mg/day (1,700 µg/day) of molybdenum

19–50 years 2.0 mg/day (2,000 µg/day) of molybdenum

UL for Lactation

14–18 years 1.7 mg/day (1,700 µg/day) of molybdenum

19–50 years 2.0 mg/day (2,000 µg/day) of molybdenum

Special Considerations

Individuals who are deficient in dietary copper intake or have some dysfunction in copper metabolism that makes them copper-deficient could be at increased risk of molybdenum toxicity. However, the effect of molybdenum intake on copper status in humans remains to be clearly established.

Intake Assessment

National surveys do not provide percentile data on the dietary intake of molybdenum. Data available from the 1988–1994 Third National Health and Nutrition Examination Survey (Appendix [Table C-21](#)) indicate that the average U.S. intake of molybdenum from supplements at the ninety-fifth percentile was 80 and 84 µg/day for men and women, respectively.

Risk Characterization

Because there is no information from national surveys on percentile distribution of molybdenum intakes, the risk of adverse effects cannot be characterized."

Anexo 3

WHO/SDE/WSH/03.04/114

Sulfate in Drinking-water

Background document for development of
WHO *Guidelines for Drinking-water Quality*

©

World Health Organization 2004 Requests for permission to reproduce or translate WHO publications - whether for sale or for noncommercial distribution - should be addressed to Publications (Fax: +41 22 791 4806; e-mail: permissions@who.int). The designations employed and the presentation of the material in this publication do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. The mention of specific companies or of certain manufacturers' products does not imply that they are endorsed or recommended by the World Health Organization in preference to others of a similar nature that are not mentioned. Errors and omissions excepted, the names of proprietary products are distinguished by initial capital letters. The World Health Organization does not warrant that the information contained in this publication is complete and correct and shall not be liable for any damage incurred as a result of its use.

Preface

One of the primary goals of WHO and its member states is that "all people, whatever their stage of development and their social and economic conditions, have the right to have access to an adequate supply of safe drinking water." A major WHO function to achieve such goals is the responsibility "to propose ... regulations, and to make recommendations with respect to international health matters" The first WHO document dealing specifically with public drinking-water quality was published in 1958 as *International Standards for Drinking-water*. It was subsequently revised in 1963 and in 1971 under the same title. In 1984-1985, the first edition of the WHO *Guidelines for Drinking-water Quality* (GDWQ) was published in three volumes: Volume 1, Recommendations; Volume 2, Health criteria and other supporting information; and Volume 3, Surveillance and control of community supplies. Second editions of these volumes were published in 1993, 1996 and 1997, respectively. Addenda to Volumes 1 and 2 of the second edition were published in 1998, addressing selected chemicals. An addendum on microbiological aspects reviewing selected microorganisms was published in 2002.

The GDWQ are subject to a rolling revision process. Through this process, microbial, chemical and radiological aspects of drinking-water are subject to periodic review, and documentation related to aspects of protection and control of public drinkingwater quality is accordingly prepared/updated. Since the first edition of the GDWQ, WHO has published information on health criteria and other supporting information to the GDWQ, describing the approaches used in deriving guideline values and presenting critical reviews and evaluations of the effects on human health of the substances or contaminants examined in drinkingwater. For each chemical contaminant or substance considered, a lead institution prepared a health criteria document evaluating the risks for human health from exposure to the particular chemical in drinking-water. Institutions from Canada, Denmark, Finland, France, Germany, Italy, Japan, Netherlands, Norway, Poland, Sweden, United Kingdom and United States of America prepared the requested health criteria documents.

Under the responsibility of the coordinators for a group of chemicals considered in the guidelines, the draft health criteria documents were submitted to a number of scientific institutions and selected experts for peer review. Comments were taken into consideration by the coordinators and authors before the documents were submitted for final evaluation by the experts meetings. A "final task force" meeting reviewed the health risk assessments and public and peer review comments and, where appropriate, decided upon guideline values. During preparation of the third edition of the GDWQ, it was decided to include a public review via the world wide web in the process of development of the health criteria documents.

During the preparation of health criteria documents and at experts meetings, careful consideration was given to information available in previous risk assessments carried out by the International Programme on Chemical Safety, in its Environmental Health Criteria monographs and Concise International Chemical Assessment Documents, the International Agency for Research on Cancer, the joint FAO/WHO Meetings on Pesticide Residues and the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (which evaluates contaminants such as lead, cadmium, nitrate and nitrite, in addition to food additives). Further up-to-date information on the GDWQ and the process of their development is available on the WHO internet site and in the current edition of the GDWQ.

Acknowledgements

Sulfate in Drinking-water, Background document for development of WHO *Guidelines for Drinking-water Quality*, is an update of the background document published in the second edition of the Guidelines. The update was prepared by Mr J.

Fawell and Mr R. Mascarenhas, United Kingdom, to whom special thanks are due. The work of the following working group coordinators was crucial in the development of this document and others in the third edition:

000422

- Mr J.K. Fawell, United Kingdom (*Organic and inorganic constituents*)
- Dr E. Ohanian, Environmental Protection Agency, USA (*Disinfectants and disinfection by-products*)
- Ms M. Giddings, Health Canada (*Disinfectants and disinfection by-products*)
- Dr P. Toft, Canada (*Pesticides*)
- Prof. Y. Magara, Hokkaido University, Japan (*Analytical achievability*)
- Mr P. Jackson, WRc-NSF, United Kingdom (*Treatment achievability*)

The contribution of peer reviewers is greatly appreciated. The draft text was posted on the world wide web for comments from the public. The revised text and the comments were discussed at the Final Task Force Meeting for the third edition of the GDWQ, held on 31 March to 4 April 2003, at which time the present version was finalized. The input of those who provided comments and of participants in the meeting is gratefully reflected in the final text.

The WHO coordinators were as follows:

- Dr J. Bartram, Coordinator, Water Sanitation and Health Programme, WHO Headquarters, and formerly WHO European Centre for Environmental Health
- Mr P. Callan, Water Sanitation and Health Programme, WHO Headquarters
- Mr H. Hashizume, Water Sanitation and Health Programme, WHO Headquarters
- Ms C. Vickers provided a liaison with the International Chemical Safety Programme, WHO Headquarters.

Ms Marla Sheffer of Ottawa, Canada, was responsible for the scientific editing of the document.

Many individuals from various countries contributed to the development of the GDWQ. The efforts of all who contributed to the preparation of this document and in particular those who provided peer or public domain review comment are greatly appreciated.

Acronyms and abbreviations used in the text

- EPA Environmental Protection Agency (USA)
- OME Ontario Ministry of the Environment
- USA United States of America

Table of contents

1. GENERAL DESCRIPTION.....	1
1.1 Identity	1
1.2 Organoleptic properties.....	1
1.3 Major uses.....	1
1.4 Environmental fate.....	1
2. ANALYTICAL METHODS	2
3. ENVIRONMENTAL LEVELS AND HUMAN EXPOSURE.....	2
3.1 Air	2
3.2 Water.....	2
3.3 Food	3
3.4 Estimated total exposure and relative contribution of drinking-water.....	3
4. KINETICS AND METABOLISM IN LABORATORY ANIMALS AND HUMANS.....	3
5. EFFECTS ON LABORATORY ANIMALS AND <i>IN VITRO</i> TEST SYSTEMS...3	3
5.1 Short-term exposure.....	3
6. EFFECTS ON HUMANS.....	4
7. CONCLUSIONS.....	5
8. REFERENCES	6

1

1. GENERAL DESCRIPTION

1.1 Identity

Sulfates occur naturally in numerous minerals, including barite (BaSO_4), epsomite ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) and gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Greenwood & Earnshaw, 1984). These dissolved minerals contribute to the mineral content of many drinking-waters.

1.2 Organoleptic properties

Reported taste threshold concentrations in drinking-water are 250–500 mg/litre (median 350 mg/litre) for sodium sulfate, 250–1000 mg/litre (median 525 mg/litre) for calcium sulfate and 400–600 mg/litre (median 525 mg/litre) for magnesium sulfate (NAS, 1977). In a survey of 10–20 people, the median concentrations that could be detected by taste were 237, 370 and 419 mg/litre for the sodium, calcium and magnesium salts, respectively (Whipple, 1907). Concentrations of sulfates at which 50% of panel members considered the water to have an “offensive taste” were approximately 1000 and 850 mg/litre for calcium and magnesium sulfate, respectively (Zoeteman, 1980). Addition of calcium and magnesium sulfate (but not sodium sulfate) to distilled water was found to improve the taste; an optimal taste was found at 270 and 90 mg/litre for calcium and magnesium sulfate, respectively (Zoeteman, 1980).

1.3 Major uses

Sulfates and sulfuric acid products are used in the production of fertilizers, chemicals, dyes, glass, paper, soaps, textiles, fungicides, insecticides, astringents and emetics. They are also used in the mining, wood pulp, metal and plating industries, in sewage treatment and in leather processing (Greenwood & Earnshaw, 1984). Aluminium sulfate (alum) is used as a sedimentation agent in the treatment of drinking-water. Copper sulfate has been used for the control of algae in raw and public water supplies (McGuire et al., 1984).

1.4 Environmental fate

Sulfates are discharged into water from mines and smelters and from kraft pulp and paper mills, textile mills and tanneries. Sodium, potassium and magnesium sulfates are all highly soluble in water, whereas calcium and barium sulfates and many heavy metal sulfates are less soluble. Atmospheric sulfur dioxide, formed by the combustion of fossil fuels and in metallurgical roasting processes, may contribute to the sulfate content of surface waters. Sulfur trioxide, produced by the photolytic or catalytic oxidation of sulfur dioxide, combines with water vapour to form dilute sulfuric acid, which falls as “acid rain” (Delisle & Schmidt, 1977).

2. ANALYTICAL METHODS

Sulfate in aqueous solutions may be determined by a gravimetric method in which sulfate is precipitated as barium sulfate; the method is suitable for sulfate concentrations above 10 mg/litre (ISO, 1990).

3. ENVIRONMENTAL LEVELS AND HUMAN EXPOSURE

3.1 Air

Levels of sulfate in air in Ontario, Canada, have been found to range from 3.0 to 12.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, with a mean of 7.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (OME, 1987). In a nationwide survey in the USA, sulfate concentrations in air ranged from 0.5 to 228 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, the means ranging from 0.8 to 31.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (US EPA, unpublished data, 1984). The average daily intake of sulfate from air based on these means and on the assumption that 20 m^3 of air are inhaled daily would be in the range 0.02–0.63 mg.

3.2 Water

Sulfate concentrations in rain in Canada ranged between 1.0 and 3.8 mg/litre in 1980 (Franklin et al., 1985). An annual mean value of about 6 mg/litre in precipitation over central Europe has been reported (WHO/UNEP, 1989). Levels of sulfate in rainwater and surface water correlate with emissions of sulfur dioxide from anthropogenic sources (Keller & Pitblade, 1986).

Seawater contains about 2700 mg of sulfate per litre (Hitchcock, 1975). According to GEMS/Water, a global network of water monitoring stations, typical sulfate levels in fresh water are in the vicinity of 20 mg/litre and range from 0 to 630 mg/litre in rivers (the highest values are found in Belgium and Mexico), from 2 to 250 mg/litre in lakes (the highest value is found in Mexico) and from 0 to 230 mg/litre in groundwater (the highest values are found in Chile and Morocco) (UNEP, 1990). Levels of sulfate in rivers in western Canada ranged from 1 to 3040 mg/litre, most concentrations being below 580 mg/litre (Environment Canada, unpublished data, 1984). Levels of sulfate in groundwater in the Netherlands were below 150 mg/litre (van Dijk-Looijaard & Fonds, 1985). In 1970, the US Public Health Service measured sulfate levels in the drinking-water sources of nine geographic areas. Sulfate was found to be present in 645 of 658 groundwater

supplies and in all of the 106 surface water supplies sampled. Sulfate levels ranged from <1 to 770 mg/litre, with a median of 4.6 mg/litre. Only 3% of the water supplies sampled had sulfate levels in excess of 250 mg/litre (US EPA, 1999a).

000424

The mean sulfate level in municipal drinking-water supplies may be increased by treatment. Thus, the mean sulfate level was 12.5 mg/litre in untreated water in municipal water supplies in Ontario, Canada, but 22.5 mg/litre in treated water (OME, unpublished data, 1987). Levels in central Canada are particularly high; in Saskatchewan, median levels of 368 and 97 mg/litre were found in treated drinkingwater from groundwater and surface water supplies, respectively, with a range of 3–32170 mg/litre (Saskatchewan Environment and Public Safety, unpublished data, 1989). In the Netherlands, the sulfate concentration of drinking-water from 65% of water treatment plants was below 25 mg/litre in 1985 (van Dijk-Looijaard & Fonds, 1985). A water quality survey carried out on British tap water supplies indicated a mean sulfate concentration of 59.5 mg/litre, with a maximum of 236 mg/litre (Powell et al., 1984).

3.3 Food

No data on the sulfate content of foodstuffs were found; however, sulfates are used as additives in the food industry (Codex Alimentarius Commission, 1992). The estimated average daily intake of sulfate in food in the USA is 453 mg, based on data on food consumption and reported usage of sulfates as additives (NAS, 1972; Informatics Inc., 1973). Sulfites and sulfides are also present in food.

3.4 Estimated total exposure and relative contribution of drinking-water

The average daily intake of sulfate from drinking-water, air and food is approximately 500 mg, food being the major source. However, in areas with drinking-water supplies containing high levels of sulfate, drinking-water may constitute the principal source of intake.

4. KINETICS AND METABOLISM IN LABORATORY ANIMALS AND HUMANS

About 30% of an oral dose of 13.9 g of magnesium sulfate heptahydrate administered in four equal hourly doses (Morris & Levy, 1983) and 43.5% of a similarly administered dose of 18.1 g of sodium sulfate decahydrate (Cocchetto & Levy, 1981) were recovered in the urine of humans within 24 h. It was estimated that approximately 73% of calcium and magnesium sulfate administered to adult male Wistar rats in the diet was absorbed (Whiting & Cole, 1986). The amount ingested, the nature of the accompanying anion and the presence of certain dietary components influence the amount of sulfate absorbed. Low doses are generally absorbed well; at high doses (such as those used to induce catharsis), the absorptive capacity is probably exceeded, so that much of the dose is excreted in the faeces.

5. EFFECTS ON LABORATORY ANIMALS AND IN VITRO TEST SYSTEMS

5.1 Short-term exposure

In short-term (28-day) studies, there were no adverse effects other than diarrhoea in weanling pigs drinking water containing 3000 mg of sulfate per litre (Paterson et al., 1979). Cattle can tolerate concentrations of sodium sulfate in their drinking-water up to 2610 mg/litre (corresponding to 527 mg/kg of body weight per day) for periods up to 90 days with no signs of toxicity except for changes in methaemoglobin and sulphaemoglobin levels (Digesti & Weeth, 1976).

Groups of 20 male and 20 female Sprague-Dawley rats were given either tap water or bottled mineral water containing sulfate at concentrations of 9–10, 280 or 1595 mg/litre for 90 days. No gastrointestinal disturbances or other effects were noted in any group, based on the evaluation of biochemical and haematological parameters as well as a histopathological examination (Würzner, 1979).

A study was carried out in which artificially reared neonatal piglets were used as a model to evaluate the effect of inorganic sulfate on bowel function in human infants. Two experiments (an 18-day and a 16-day study) were conducted to evaluate the effects of high levels of sulfate on growth, feed intake and faecal consistency of the piglets and to determine the dose at which 50% of the pigs developed non-pathogenic diarrhoea. The study involved newborn piglets being left with the dams for a period of 48 h and then transferred to an isolated room containing an automated feeding device that dispensed liquid diet, the amount being dependent on the weight of each piglet. Initially, the piglets were fed a basal diet with no added sulfate in order to allow them to adapt to their new environment. This was done for 3–4 days, following which 40 piglets were weighed and distributed into four groups of 10, according to sex, body weight and litter origin. The groups were fed the liquid diet containing inorganic sulfate (as anhydrous sodium sulfate) at 0, 1200, 1600 or 2000 mg/litre of diet for experiment 1 over 18 days and at 0, 1800, 2000 or 2200 mg/litre of diet for experiment 2 over 16 days. The results of these studies indicated that addition of sulfate did not affect the growth of the piglets or their feed intake. At 1200 mg/litre, there was no effect on faecal consistency, but at 1800 mg/litre, the piglets displayed a persistent non-

pathogenic diarrhoea. The study indicated that the level of added dietary sulfate at which 50% of the piglets developed non-pathogenic diarrhoea was between 1600 and 1800 mg/litre (Gomez et al., 1995).

090421

6. EFFECTS ON HUMANS

Ingestion of 8 g of sodium sulfate and 7 g of magnesium sulfate caused catharsis in adult males (Cocchetto & Levy, 1981; Morris & Levy, 1983). Cathartic effects are commonly reported to be experienced by people consuming drinking-water containing sulfate in concentrations exceeding 600 mg/litre (US DHEW, 1962; Chien et al., 1968), although it is also reported that humans can adapt to higher concentrations with time (US EPA, 1985). Dehydration has also been reported as a common side-effect following the ingestion of large amounts of magnesium or sodium sulfate (Fingl, 1980).

There are subpopulations that may be more sensitive to the cathartic effects of exposure to high concentrations of sulfate. Children, transients and the elderly are such populations because of the potentially high risk of dehydration from diarrhoea that may be caused by high levels of sulfate in drinking-water (US EPA, 1999a,b). There have been a number of studies conducted to determine the toxicity of sulfate in humans. Case reports of diarrhoea in three infants exposed to water containing sulfate at concentrations ranging from 630 to 1150 mg/litre have been presented (Chien et al., 1968). However, the diarrhoea could not be explained as being solely due to exposure to high sulfate levels, and other factors may have played a role (e.g., consumption of infant formula with high osmolarity or the presence of microbial pathogens). These other potential causes were not addressed by the authors.

A survey in North Dakota, USA, observed a slight increase in the percentage of people who reported a laxative effect when the drinking-water contained 500–1000 mg of sulfate per litre compared with people who reported a laxative effect with water containing <500 mg of sulfate per litre (28% versus 21%). Sixty-eight per cent of people consuming water with levels of sulfate between 1000 and 1500 mg/litre reported laxative effects. Several different conclusions were drawn from this survey by different people examining the data. It was concluded that drinking-water containing ≥ 750 mg of sulfate per litre was associated with a self-reported laxative effect, whereas water containing <600 mg/litre was not (Esteban et al., 1997). A reanalysis of the data found that most people experienced a laxative effect when they drank water containing >1000 mg of sulfate per litre (US EPA, 1999b). Four healthy adult subjects were provided with drinking-water containing increasing levels of sulfate (0, 400, 600, 800, 1000 or 1200 mg/litre) from sodium sulfate for six consecutive 2-day periods. In addition, in a study in which a single dose level of sulfate was used, six other volunteers received water with 0 or 1200 mg of sulfate per litre for 2 consecutive 6-day periods. In the dose range study, there was a decrease in gastrointestinal retention of food, measured by mouth to anus appearance time (using coloured markers), with increasing sulfate concentration. In the single-dose study, there was a significant increase in stool mass for the 6 days of exposure to sulfate compared with the 6 days without exposure. None of the study subjects reported diarrhoea (Heizer et al., 1997).

In a field study that was carried out to examine the risks for diarrhoea in infants exposed to tap water containing sulfate with a median concentration of 264 mg/litre and a range of up to 2787 mg/litre, compared with the risks for those not using tap water or using low-sulfate tap water, there was no significant association between sulfate ingestion and the incidence of diarrhoea for the range of concentrations studied (US EPA, 1999a).

Reviews of the literature and a study to experimentally determine a sulfate dose that would induce effects in adults concluded that it was not possible to set a health-based standard for sulfate in drinking-water and confirmed the conclusions of other workers (Backer, 2000; Backer et al., 2001).

7. CONCLUSIONS

The existing data do not identify a level of sulfate in drinking-water that is likely to cause adverse human health effects. The data from the liquid diet piglet study and from tap water studies with human volunteers indicate a laxative effect at concentrations of 1000–1200 mg/litre, but no increase in diarrhoea, dehydration or weight loss. The presence of sulfate in drinking-water can also result in a noticeable taste; the lowest taste threshold concentration for sulfate is approximately 250 mg/litre as the sodium salt. Sulfate may also contribute to the corrosion of distribution systems.

In the light of the above considerations, no health-based guideline value for sulfate in drinking water is proposed. However, there is an increasing likelihood of complaints arising from a noticeable taste as concentrations in water increase above 500 mg/litre.

8. REFERENCES

- Backer L (2000) Assessing the acute gastrointestinal effects of ingesting naturally-occurring high levels of sulfate in drinking water. *CRC Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 37(4):389–400.
- Backer LC et al. (2001) Assessing acute diarrhea from sulfate in drinking water. *Journal of the American Water Works Association*, 93:76–84.

- Chien L et al. (1968) Infantile gastroenteritis due to water with high sulfate content. *Canadian Medical Association Journal*, 99:102–104.
- Cocchetto DM, Levy G (1981) Absorption of orally administered sodium sulfate in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70:331–333.
- Codex Alimentarius Commission (1992) *Food additives*. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (Codex Alimentarius Vol. I).
- Committee on Water Quality Criteria (1972) *Water quality criteria 1972*. Washington, DC, National Academy of Sciences, National Academy of Engineering.
- Delisle CE, Schmidt JW (1977) The effects of sulphur on water and aquatic life in Canada. In: *Sulphur and its inorganic derivatives in the Canadian environment*. Ottawa, Ontario, National Research Council of Canada (NRCC No. 15015).
- Digesti RD, Weeth HJ (1976) A defensible maximum for inorganic sulfate in drinking water of cattle. *Journal of Animal Science*, 42:1498–1502.
- Esteban E et al. (1997) Evaluation of infant diarrhoea associated with elevated levels of sulfate in drinking water: a case control investigation in South Dakota. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 3(3):171–176.
- Fingl E (1980) Laxatives and cathartics. In: Gilman AG et al., eds. *Pharmacological basis of therapeutics*. New York, NY, MacMillan Publishing.
- Franklin CA et al. (1985) Health risks from acid rain: a Canadian perspective. *Environmental Health Perspectives*, 63:155–168.
- Gomez GG, Sandler RS, Seal E Jr (1995) High levels of inorganic sulfate cause diarrhea in neonatal piglets. *Journal of Nutrition*, 125(9):2325–2332.
- Greenwood NN, Earnshaw A (1984) *Chemistry of the elements*. Oxford, Pergamon Press.
- Heizer WD et al. (1997) Intestinal effects of sulfate on drinking water in normal human subjects. *Digestive Diseases and Sciences*, 42(5):1055–1061.
- Hitchcock DR (1975) Biogenic contributions to atmospheric sulphate levels. In: *Proceedings of the 2nd National Conference on Complete Water Re-use*. Chicago, IL, American Institute of Chemical Engineers.
- Informatics Inc. (1973) *GRAS (generally recognised as safe) food ingredients: ammonium ion*. Washington, DC, US Department of Commerce, National Technical Information Service (PB-221-235).
- ISO (1990) *Water quality — determination of sulfate*. Geneva, International Organization for Standardization (ISO 9280:1990).
- Keller W, Pitblade JR (1986) Water quality changes in Sudbury area lakes: a comparison of synoptic surveys in 1974–1976 and in 1981–1983. *Water, Air and Soil Pollution*, 29:285.
- McGuire MJ et al. (1984) Controlling attached blue-green algae with copper sulphate. *Journal of the American Water Works Association*, 76:60.
- Morris ME, Levy G (1983) Absorption of sulfate from orally administered magnesium sulfate in man. *Journal of Toxicology — Clinical Toxicology*, 20:107–114.
- NAS (1972) *Food ingredients*. Washington, DC, National Academy of Sciences, Subcommittee on Research of GRAS (Generally Recognised As Safe) List (Phase II) (DHEW No. FDA 70-22).
- NAS (1977) *Drinking water and health*. Washington, DC, National Research Council, National Academy of Sciences.
- OME (1987) *Appendix to annual report on air quality in Ontario*. Etobicoke, Ontario, Ontario Ministry of the Environment, Air Quality Assessment Unit.
- Paterson DW et al. (1979) Effects of sulfate in water on swine reproduction and young pig performance. *Journal of Animal Science*, 49:664–667.
- Powell P, Bailey RJ, Jolly PK (1984) *Trace elements in British tap-water supplies*. Medmenham, Water Research Centre (Report 706-M).
- UNEP (1990) *GEMS/Water data summary 1985–1987*. Burlington, Ontario, Canada Centre for Inland Waters; United Nations Environment Programme, Global Environment Monitoring System, GEMS/Water Programme Office.
- US DHEW (1962) *Drinking water standards — 1962*. Washington, DC, US Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service; US Government Printing Office (Publication No. 956).
- US EPA (1985) National primary drinking water regulations; synthetic organic chemicals, inorganic chemicals and microorganisms; proposed rule. US Environmental Protection Agency. *Federal Register*, 50(219):46936.
- US EPA (1999a) *Health effects from exposure to high levels of sulfate in drinking water study*. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Water (EPA 815-R-99-001).
- US EPA (1999b) *Health effects from exposure to high levels of sulfate in drinking water workshop*. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Water (EPA 815-R-99-002).
- Van Dijk-Looijaard AM, Fonds AW (1985) *Integrated criteria document sulfate*. Bilthoven, National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM Report No. 718612001).
- Whipple GC (1907) *The value of pure water*. New York, NY, John Wiley [cited in Committee on Water Quality Criteria, 1972].
- Whiting SJ, Cole DE (1986) Effect of dietary anion composition on acid-induced hypercalciuria in the adult rat. *Journal of Nutrition*, 116:388–394.

00420

WHO/UNEP (1989) *Global Environment Monitoring System: Global freshwater quality*. Published on behalf of the World Health Organization and the United Nations Environment Programme. Oxford, Alden Press.

Würzner HP (1979) Exposure of rats during 90 days to mineral water containing various amounts of sulphate. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 18:119–127.

Zoeteman BCJ (1980) *Sensory assessment of water quality*. New York, NY, Pergamon Press.

00427

Anexo 4

Derivation of L(E)C₁₀/NOEC for Mo for Surface and Groundwater

April 2007



Patrick Van Sprang and Dagobert Heijerick

EURAS

Mercatorgebouw, Kortrijksesteenweg 302

9000 Gent, Belgium

Tel: ++ 32 9 241 77 45

Fax: ++ 32 9 241 77 02

Prepared for:

International Molybdenum Association (IMOA)

Rue Père Eudore Devroye 245

B-1150 Brussels, Belgium

1. Methodology

1.1 Selection of ecotoxicological data

The assessment of data adequacy involves a review of individual data elements with respect to how the study is conducted and how the results are interpreted in order to accept (or reject) a study in accordance with the purpose of the assessment.

The term adequacy covers both the reliability of the available data and the relevance of the data for use in setting environmental quality standards (EQS). These two basic elements have been defined by the TGD as follows:

- **Reliability:** covering the inherent quality of a test relating to test methodology and the way that the performance and results of a test are described.
- **Relevance:** covering the extent to which a test is appropriate for a particular risk assessment.

Only ecotoxicity data that comply with all of the above-mentioned criteria can be considered valid and should be used for EQS setting.

1.1.1 Relevance

Biological relevancy

The toxicity data on algae, higher plants, invertebrates, amphibians and fish are from single-species tests that study relevant ecotoxicological parameters such as survival, growth, reproduction and developmental malformations.

Relevancy of the test substance

Mo-only exposures are considered relevant for the effects assessment. Studies should be rejected if indications exist that impurities or other substances might have an effect on the toxic properties of the substance under investigation.

Ecological relevancy of data

The assessment of the ecological relevancy of a particular study requires that certain basic ecological considerations be taken into account (e.g.; test organisms should be representative for the environment). This is especially true when non-ecological relevant species are the driver for the EQS.

Relevancy of the test medium

The range of the physico-chemistry of the test media should be within the range of ecologically relevant conditions that occur in European surface waters. Therefore information on key physicochemical parameters of the test medium should be reported, i.e., pH, hardness and dissolved organic matter. The latter parameter is rarely reported, but in most cases a reliable estimate of the DOC-content can be made based on the type of test medium that is used (well water, artificial water, natural water, tap water, etc.).

1.1.2 Reliability

Standardised tests, as prescribed by organisations such as OECD and USEPA, are used as a reference when test methodology, performance and data treatment/reporting are considered. Indeed, the thorough description of key requirements guarantees the (high) reliability of the reported ecotoxicity data. Non-standardised test data, however, may also have a high reliability, but require a more thorough check on their compliance with reliability criteria before being used in hazard identification and/or risk assessment. The specific items considered in this study for data selection are the following:

Type of test

Both standard OECD approved tests and non standardised tests have been considered as suitable. Ideally, tests should be performed according to international accepted standard operational procedures and/or guidelines (e.g., OECD Guidelines, ISO-Guidelines, EPA-Guidelines,...). Preference is given to data extracted from peer reviewed publications, but data from national environment agencies (US EPA, RIVM,...) are also retained. For risk assessment and EQS purposes preference is given to chronic tests. Chronic exposure depends upon the exposure duration and is also a function of the life cycle of the test organisms. A priori fixed exposure durations are therefore not relevant and should instead be related to the species, their typical life cycle and to the recommended exposure duration as described in standard ecotoxicity protocols (e.g. 7 days for Ceriodaphnids (ASTM, 2004), 21 days for daphnids (OECD, 1998), 30 days for fish (OECD, 1992). According to the Zn risk assessment, chronic exposure was defined as > 4 days for all invertebrates and fish. With respect to the chronic effect values it is noted that the fact whether or not a NOEC value is considered chronic is not determined exclusively by the above exposure limit of 4 days. For unicellular algae, other micro-organisms (bacteria, protozoa) and even invertebrates (e.g. rotifers), an exposure time of 4 days or less already covers one or more generations, thus for these organisms chronic NOEC values may be derived from experiments during less than 4 days.

Description of test material and methods

A detailed description of methods employed in the study should be provided. Including, but not limited to preparation of the test solutions (environment), timing of administration and observations recorded, etc.

Chemical analysis

In general metal effects assessment should only be based on NOEC values which were derived from actual (measured) effect concentrations. This is especially relevant for those metals where effects concentrations are close to the background concentrations. For those metals where the background level is negligible compared to the observed NOEC, effects levels based on nominal values can be considered if there is clear indication that actual values are within 10% of nominal values.

If it is not mentioned whether the NOEC/L(E)C₁₀ values are based on measured or nominal concentrations, they were considered as nominal concentrations.

Test acceptability

Minimal requirements for endpoints such as mortality, growth, reproduction (e.g. control mortality for chronic exposure < 20 %) are often given in standard procedures. Therefore chronic data were rejected if evidence is provided that such unacceptable control mortality is observed in the control. For algae, control division rate was checked for conformity with OECD (1983) and ASTM (2003) guidelines. These guidelines suggested a cell division rate of 1.33 for the OECD guideline (i.e. cell concentration in the control cultures should have increased by a factor of at least 16 within 3 days) and 1.0 for the ASTM (2003) guideline (i.e. cell concentration in the control cultures should have increased by a factor of at least 16 within 4 days).

Concentration-effect relationships

Clear dose-response should be observed. Because effect concentrations are statistically derived values, information concerning the statistics should be used as a criterion for data selection. In that respect L(E)C₁₀ values are considered as equivalent to NOEC. If no methodology is reported or if values are 'visually' derived, the data were considered unreliable. Effect levels derived from toxicity tests using only 1 test concentration always results in unbounded and therefore unreliable data. Therefore, only the results from toxicity tests using 1 control and at least 2 test concentrations were retained. Tests that do not comply with the above-mentioned stipulations are rated as not reliable and are not recommended for use in the risk assessment exercise. However, the use of unbounded NOEC/LOEC values could be justified on a case by case basis, e.g. when no other toxicity values are available for a particular species or when scientific evidence exist that the true toxicity towards a specific organism would be biased if such data were not taken into account.

1.2 Derivation of L(E)C₁₀/NOEC values (methods)

The toxicological variables are estimated based on NOEC (No Observed Effect concentration) or L(E)C₁₀ values. The methods that have been used for the derivation of NOEC values, being "real" NOEC values or NOEC values derived from effect concentrations, are based on the recommendations outlined in the revised TGD (2003).

If L(E)C₁₀ data are reported or if both NOEC and L(E)C₁₀ data are available, the L(E)C₁₀ value were used in the effects assessment. It is recommended that the L(E)C₁₀ value should not be extrapolated below the lowest applied (non-zero) concentration. According to the draft ISO document estimation of L(E)C₁₀ values outside the concentration range tested introduces a great deal of uncertainty. Furthermore for metals/metal compounds it is imperative that this value should fall within the range of tested concentrations to avoid extrapolating L(E)C₁₀ values below the natural background.

If no reliable L(E)C₁₀ values are available, "real" NOEC values should be derived from the data reported, i.e. the NOEC is one of the concentrations actually used in the test and should be derived using appropriate statistics (significance level usually: p = 0.05 (optional: the p = 0.01 level if reported instead of the p = 0.05 level)).

According to the TGD, LOEC/MATC values could also be considered and used for the generation of NOEC values as follows:

- use of MATC values: NOEC=MATC/√2
- use of LOEC values: NOEC=LOEC/2 in case the effects are situated between 10-20%

1.3 Aggregation of L(E)C₁₀/NOEC data

In addition, to avoid over-representation of ecotoxicological data from one particular species and as used in the above mentioned EU risk assessment, the chronic Cr toxicity data values used here were treated as following:

- If for one species several chronic NOEC values based on the same toxicological endpoint are available, these values are averaged by calculating the geometric mean, resulting in the "species mean" NOEC. With respect to this it is noted that the NOEC values should be from equivalent tests, for example from tests with similar exposure times. However, NOEC values derived from tests with a relatively short exposure time may be used together with NOEC values derived from tests with a longer exposure time if the data indicate that a sensitive life stage was tested in the former tests.
- If for one species several chronic NOEC values based on different toxicological endpoints are available, the lowest value is selected. The lowest value is determined on the basis of the geometric mean if more than one value for the same endpoint is available (see above).
- In some cases, NOEC values for different life stages of a specific organism are available in a specific publication. If from these data it becomes evident that a distinct life stage is more sensitive, the result for the most sensitive life stage is selected. The life stage of the organisms is indicated in the tables as the life stage at start of the test (e.g. fish: yearlings) or as the life stage(s) during the test (e.g. eggs → larvae, which is a test including the egg and larval stage).

2. Overview of the chronic toxicity data for molybdenum

The evaluation of the various studies that report chronic toxicity of molybdenum to aquatic freshwater organisms is presented in Annex. An overview of all NOEC/EC₁₀ values and their quality index is presented in Table 2. Studies with a highly reliable (Q1) or intermediate reliable (Q2) quality label can be used for PNEC-derivation.

Table 2: Overview of the chronic freshwater toxicity data for Mo.

Species	Mo-salt	Effect level (mg/L)	Quality label	Reference
Algae				
<i>S. subspicatus</i>	NH ₄ -molybdate	72h-NOEC: 25	Q3	HRC, 1994a
<i>S. subspicatus</i>	Na-molybdate	72h-NOEC: 12.5	Q3	HRC, 1994b
<i>S. subspicatus</i>	Mo-oxide (tech)	72h-NOEC: ≥ 100	Q3	HRC, 1994c
<i>S. subspicatus</i>	Mo-oxide (pure)	72h-NOEC: ≥ 100	Q3	HRC, 1994d
S.	Na-molybdate	72h-NOEC: 4.6	Q3	HRC, 1996

<i>capricornutum</i>					
<i>P. subcapitata</i>	Na-molybdate	72h-NOEC: 3.4	Q1	Rodriguez, 2007	
<i>P. subcapitata</i>	Na-molybdate	72h-NOEC: 8.0	Q1	Rodriguez, 2007	
Crustaceans					
<i>D. magna</i>	Na-molybdate	21d-NOEC _{mortality} : 373 ⁽¹⁾	Q1	Canton et al, 2006 (Draft publication)	
		21d-NOEC _{repr} : 136 ⁽¹⁾	Q1		
<i>D. magna</i>	Na-molybdate	21d-NOEC: 50	Q3	Diamantino et al, 2000	
<i>D. magna</i>	Mo-oxide	21d-EC _{10,rm} : 6.98 mg/L	Q1	Kimball, 1978	
		21d-NOEC _{rm} : 4.41 mg/L	Q1		
<i>D. magna</i>	Na-molybdate	21d-NOEC _{repr} : 49.9	Q1	Rodriguez, 2007	
<i>C. dubia</i>	Na-molybdate	7d-NOEC _{mortality} : 159 ⁽¹⁾	Q1	Canton et al, 2006 (Draft publication)	
		7d-NOEC _{repr} : 38.5 ⁽²⁾	Q2		
<i>C. dubia</i>	Na-molybdate	8d-NOEC: 17 ⁽³⁾	Q2/Q3	Naddy et al, 1995	
Amphibians					
<i>G. caroliniensis</i>	n.r.	28d-LC ₅₀ : 0.79	Q3	Birge, 1978; Birge et al 1980	
Fish					
<i>O. mykiss</i>	n.r.	28d-LC ₅₀ : 0.73	Q3	Birge, 1978; Birge et al 1980	
<i>O. mykiss</i>	Na-molybdate	32d-NOEC: 200	Q1	Davies et al, 2005	
		32d-NOEC: 750	Q1		
<i>O. mykiss</i>	Na-molybdate	1-year-NOEC: >17	Q2	McConnell, 1977 & Anonymous	
		(18m-NOEC: >18.5)	Q2		
<i>P. promelas</i>	Na-molybdate	NOEC _{mortality} : 575 ⁽¹⁾	Q1	Canton et al, 2006 (Draft publication)	
		NOEC _{growth} : 143.8 ⁽¹⁾	Q1		
<i>C. auratus</i>	n.r.	28d-LC ₅₀ : 60	Q3	Birge, 1978; Birge et al 1980	
<i>O. mykiss</i>	Na-molybdate	60d-NOEC/LC ₅₀ : >30	Q3	McDevitt et al, 1999	
<i>O. clarki</i>	Na-molybdate	30d-NOEC: >87.8	Q3	Pickard et al, 1999	
<i>O. kisutch</i>	Na-molybdate	20w-NOEC: >19.5	Q3	Ennevor, 1993	
To be evaluated⁽⁴⁾					
<i>E. gracilis</i>	NH ₄ -molybdate	Unbounded LOEC of 96		Colmano, 1973	
<i>C. vulgaris</i>	NH ₄ -molybdate	3 to 4m-NOEC: 10		Den dooren de Jong, 1965	
<i>C. vulgaris</i>	NH ₄ -molybdate	96h-NOEC: 20		Sakaguchi et al, 1981	

⁽¹⁾: geometric mean of 2 values ; ⁽²⁾: 7d-EC₂₀/2 ; ⁽³⁾: 8d-IC_{12.5}/2 ; ⁽⁴⁾: studies not available yet

3. Conclusion

Long-term Q1/Q2 NOEC values for three species (algae, fish and invertebrates (*Daphnia*)) representing three trophic levels were gathered from literature, with values ranging between 4.3 and 750 mg Mo/L. The lowest chronic NOEC was 3,400 µg Mo/l.

4. References

Birge WJ, 1978. Aquatic toxicology of trace elements of coal and fly ash. In: Thorp JH, Gibbons JW (Eds), Energy and environmental stress in aquatic systems. Department of Energy Symposium Series CONF 771114.

Birge WJ, Black JA, Westerman AG, 1979. Evaluation of Aquatic Pollutants Using Fish and Amphibian Eggs as Bioassay Organisms.

Birge WJ Black JA, Westerman AG, Hudson JE, 1980. Aquatic toxicity tests on inorganic elements occurring in oil shale. In: Gale C (Ed), Oil shale symposium: sampling, analysis and quality assurance. National Technical Information Service, Springfield, VA, pp 519-534. EPA-600/9-80-022.

Canton SP, Wall LG, Chadwick JW, draft publication. Acute and chronic molybdenum toxicity to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, *Chironomus tentans*, *Girardia dorocephala* and *Pimephales promelas*.

CEC (Chadwick Ecological Consultants), 2004. Acute and chronic molybdenum testing with *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna*. Technical Memorandum to Molycorp, Inc.

CEC Chadwick Ecological Consultants, 2005a. Technical Memorandum: Revised proposed ambient water quality criteria for molybdenum in surface waters.

CEC (Chadwick Ecological Consultants), 2005b. Updated analysis of new acute and chronic molybdenum testing with *Chironomus tentans*, *Girardia dorocephala* and *Pimephales promelas*. Technical Memorandum to Molycorp, Inc. and Thompson Creek Mining Company.

Colmano G, 1973. Molybdenum toxicity: abnormal cellular division of teratogenic appearance in *Euglena gracilis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 9 (6), 361-364.

Davies TD, Pickard J, Hall KJ, 2005. Acute molybdenum toxicity to rainbow trout and other fish. J. Environ. Eng. Sci. 4, 481-485.

Den Dooren De Jong LE, 1965. Tolerance of *Chlorella vulgaris* for metallic and non-metallic ions. J. Microbiol. Ser. 31, 301-313.

Diamantino TC, Guilhermino L, Almeida E, Soares AMVM, 2000. Toxicity of sodium molybdate and sodium dichromate to *Daphnia magna* Straus evaluated in acute, chronic and acetylcholinesterase inhibition tests. Ecotox. Environ. Safety 45, 253-259

Ennevor BC, 1993. Effects of sodium molybdate and Endako mine effluent on developing embryos and alevin of coho salmon at Capilano river hatchery. Fisheries and Oceans Canada, Habitat Management Branch. Vancouver BC Draft Report.

Fletcher T, Stephenson GL, Muncaster B, Wren CD, Spry DJ, 1997. Scientific Criteria document for the development of an interim provincial water quality objective for molybdenum. Consultation Draft, Standards Development Branch, Ontario Ministry of the Environment.

Huntington Research Centre, 1994a. Publication #461 in Molybdenum database. Ammonium dimolybdate - Algal growth inhibition. HRC Report.

Huntington Research Centre, 1994b. Publication #452 in Molybdenum database. Sodium molybdate dihydrate - Algal growth inhibition. HRC Report.

Huntington Research Centre, 1994c. Publication #435 in Molybdenum database. Molybdenum oxide (technical) - Algal growth inhibition. HRC Report.

Huntington Research Centre, 1994d. Publication #425 in Molybdenum database. Molybdenum oxide (pure) - Algal growth inhibition. HRC Report.

Huntington Research Centre, 1996. Publication #41350 in Molybdenum database Sodium molybdate 241/32 - Algal growth inhibition. HRC Report.

Kimball G, 1978. The effect of lesser known metals and some organic to fathead minnows (*Pimephales promelas*) and *Daphnia magna*. Unpublished manuscript. Department of Entomology, Fisheries, and Wildlife, University of Minnesota, Minneapolis, MN.

McConnell RP, 1977. Toxicity of molybdenum to rainbow trout under laboratory conditions. In Chappell WR, Peterson KK (Eds), *The geochemistry, cycling, and industrial uses of molybdenum*. Marcel Dekker Inc, New York, Ny, pp 725-730.

McDevitt Ca, Pickard J, Andersen K, Hickoff C, 1999. Toxicity of molybdenum to early life stages of rainbow trout in on site bioassays. In: *Proceedings of the 1999 Workshop on Molybdenum Issues in Reclamation*. Kamloops BC, 24 September. Edited by Brice WA, Hart B, Howell C, pp 120-129.

Naddy RB, La point TW, Klaine SJ, 1995. Toxicity of arsenic, molybdenum and selenium combinations to *Ceriodaphnia dubia*. *Environ.Toxicol.Chem.* 14, 329-336.

Pickard J, McKee P, Stroiazzo J, 1999. Site specific multispecies toxicity testing of sulphate and molybdenum spiked mining effluent and receiving water. In: *Proceedings of the 1999 Workshop on Molybdenum Issues in Reclamation*. Kamloops BC, 24 September. Edited by Brice WA, Hart B, Howell C, pp 86-95.

Rodriguez PH, 2007. Molybdenum: toxicity to *Daphnia magna* and *Pseudokirchneriella subcapitata* (micro algae). Chilean Mining and Metallurgy Research Center, Final Report to the International Molybdenum Association. 17 p.

Sakaguchi T, Nakajima A, Horikoshi T, 1981. Studies on the accumulation of metal elements in biological systems XVIII. Accumulation of molybdenum by green microalgae. *European J. Appl.Microbiol.Biotechnol.* 12, 84-89.

van Vlaardingen, P.L.A. et al. (2005): Environmental risk limits for nine trace elements.RIVM report 601501029/2005

ANNEX – Evaluation of the quality of chronic Mo-ecotoxicity studies

A1 Introduction

This Annex presents a critical review of relevant, available data regarding chronic toxicity of molybdenum for the aquatic environment. The assessment of data adequacy (relevance and reliability) involves a review of individual data elements with respect to how the study is conducted and how the results are interpreted in order to accept (or reject) a study in accordance with the purpose of the assessment.

In theory, only chronic data from high quality studies should be used for regulatory purposes. In practice, however, this may result in a very limited amount of studies and toxicity data, especially for compounds like molybdenum for which the number of toxicological studies is rather limited compared to some other metals or other chemical compounds. It was therefore decided to classify the evaluated studies into three categories:

Category 1; High quality data (Q1-data for RA-purposes): Relevant studies that comply with all criteria described in section 1.1 (full description of test method and conditions, based on measured concentrations, clear effect-concentration relationship that allows the derivation of a reliable LC₁₀ or NOEC).

Category 2: Satisfactory quality data (Q2-data for RA-purposes): Relevant studies for which no or insufficient information is given on one of the reliability criteria described in section 1.1:

- effect concentrations are based on nominal values;
- or
- test method and conditions are insufficiently described;
- or
- unbounded NOEC/LOEC values for a particular species for which no other data are available or when scientific evidence exist that the true toxicity towards a specific organism would be biased if such data were not taken into account

If clear evidence is given that the criterion for which information is lacking, does not meet the quality standards set in section 1.1 (e.g., nominal values are given, but precipitation of Mo is reported), this study should be categorised as Q3 (Low quality data)

Category 3: Low quality data (Q3-data for RA purposes): Irrelevant studies or relevant studies for which no or insufficient information is given on more than one of the reliability criteria described in section 1.1.

A2 Evaluation of chronic toxicity studies with molybdenum

A2.1 Birge et al., 1979 ; Birge, 1978. Evaluation of Aquatic Pollutants Using Fish and Amphibian Eggs as Bioassay Organisms ; Aquatic toxicology of trace elements of coal and fly ash.

Reported LC₅₀-value for molybdenum in Birge et al. (1979) is an average of LC₅₀s for three different species: a 7d-LC₅₀ for the narrow-mouthed toad (*Gastrophryne caroliniensis*), a 7d-LC₅₀ for the goldfish (*Carassius auratus*) and 28d-LC₅₀ for the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The individual values are given in Birge (1978):

Organism	Effect concentration
Toad (<i>Gastrophryne caroliniensis</i>)	7d-LC ₅₀ : 0.96 mg/L (0.58 – 1.60)
	7d-LC ₁ : 3.1 µg/L (0.6 – 9.0)
Goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	7d-LC ₅₀ : 60 mg/L (7.94 – 92.2)
	7d-LC ₁ : 39.3 µg/L (0.9 – 26.1)
Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i> ⁽¹⁾)	28d-LC ₅₀ : 0.73 mg/L (0.30 – 1.40)
	28d-LC ₁ : 22.3 µg/L (1.2 – 83.4)

⁽¹⁾: previously named *Salmo gairdneri*

Exposure periods started upon fertilisation of the eggs and ended at 4 days post-hatching, indicating that test results should be considered as a chronic tests: test period covering an entire life stage, and tested life stage considered to be (the most) sensitive. However, the reported endpoint (LC₅₀) is not relevant for chronic tests: EU-regulations require EC₁₀ or NOEC-values.

With the information provided in the two papers it is not possible to derive NOEC- or EC₁₀-values (concentration-specific data not given; concentration-effects relationship not reported).

- Physicochemical parameters were monitored directly for pH, temperature, hardness, dissolved oxygen, conductivity, flow rate and toxicant concentration;
- Average values and variation is only reported for hardness, pH and temperature;
- Metal levels were measured (AAS, model 503 Perkin-Elmer, equipped with an HGA-2100 graphite furnace), indicating that reported LC₅₀s are based on measured values or are based on nominal values that were relevant for the actual metal concentration. Further information on measured levels is not provided;
- Test methodology for the rapid-scan egg bioassays was not described properly; information was given that methodology is in line with the technique of Birge and Just (1975; publication not available);
- Used Mo-salt was not reported.

⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes)**

A2.2 Davies et al, 2005. Acute molybdenum toxicity to rainbow trout and other fish.

This study replicated the studies by Birge (1978) and Birge et al (1980), who found, in contrast to other findings for this metal, that molybdenum was very toxic to developing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (28d-LC₅₀ values of 0.73 and 0.79 mg/L to embryo/alevins). Davies et al (2005) followed both methodology and water chemistry that were used in these previous studies.

- Test methods followed standard guidelines, and are well described;
 - Physicochemistry of the test medium was monitored during the test (e.g., pH, hardness, temperature, conductivity, dissolved oxygen). Measured values are reported in this study;
 - Used salt is reported: sodium molybdate dehydrate;
 - A chronic exposure period is considered (32 days; from fertilisation until post-hatching);
 - Molybdenum levels were measured, and were within 10% or better of the nominal values; nominal values were used for statistical analysis;
 - Tests were performed at two different hardness-levels: ± 100 mg/L as CaCO₃ (cfr. Birge-studies) and 42 mg/L as CaCO₃ (as specified in the standard test guideline);
 - Highest concentration exposure groups did not exhibit sufficient mortality to calculate LC₅₀-values
 - 32d-NOEC-values were 200 mg/L (hardness of 100 mg/L as CaCO₃) of and 750 mg/L (hardness of 750 mg/L as CaCO₃). LC₁₅ or LC₂₀ were also calculated, but are not considered as relevant end parameters.
- ⇒ **Q1-study** (highly reliable study, useful for risk assessment and other regulatory purposes). This study is in line with all requirements needed for highly reliable data: the test method is well described, physicochemistry of the test medium is monitored and reported, Mo-levels were measured and were within 10% of the nominal values, and a relevant end parameter is reported (32d-NOEC). The chronic test period covers a full sensitive life stage (from fertilisation until post-hatching), and indication is given that statistical treatment of the data is well performed.

This study was not able to repeat the outcome of the tests reported by Birge (1978) and Birge et al (1980), who found substantially lower effect levels for Mo with this species. Based on our evaluation, the Birge (1978) study was previously classified as a Q3-study (not useful for risk assessment purposes) (See A2.2).

A2.3 McConnell RP. Toxicity of molybdenum to rainbow trout under laboratory conditions

For this study the quality of reported acute toxicity tests was also evaluated.

Chronic test:

- Test conditions and test method have been reported adequately;
 - Physicochemical conditions (alkalinity, hardness, pH, dissolved oxygen) during the test were measured, reported and variability during the test period is acceptable;
 - Test period (1 year) exceeds the minimum exposure period for chronic testing with fish (i.e., 28 days);
 - The test is in line with the requirement of at least 5 test concentrations + control; tested molybdenum concentrations are measured;
 - Used salt is reported: sodium molybdate;
 - Criteria for control mortality is not exceeded (i.e., 20%; mortality during the test was 13.3%)
- ⇒ **Q2-study** (useful for risk assessment and other regulatory purposes); study can not be considered as a study of the highest quality (Q1-study), because the reported NOEC is an unbounded NOEC, i.e. no effect was observed at the highest test concentration, so no exact value can be determined (NOEC ≥ 17 mg/L Mo). The outcome of this study, however, needs to be compared with the reported results in section A2.4 of this document.

Acute tests:

- Test conditions and test method have been reported adequately;
- The amount of fish in each test concentration is in line with OECD Guideline 203;
- The amount of tested concentrations (5 + 1 control) is in line with OECD Guideline 203;
- Test duration and endpoint are in line with OECD Guideline 203;
- Test medium was defined, test method was static-renewal;
- Nominal concentrations are reported, but Mo was measured (results not given);
- Effect-concentration relationships are given, thus allowing to recalculate the LC₅₀s using more appropriate statistical methods (straight line graphical interpolation was used in this study);
- Test substance is reported (sodium molybdate).

- ⇒ **Q2-study (useful for classification and other regulatory purposes);** study can not be considered as a study of the highest quality (Q1-study), because the reported LC₅₀s are based on nominal Mo-concentrations and not on measured values. It is advised to use LC₅₀-values that are determined by means of fitting a logistic distribution through the data points (see Table below). The relevance of the reported LC₅₀s, however, should be evaluated by taking the solubility of sodium molybdate into account.

	Test with fish averaging 55 mm in length	Test with fish averaging 20 mm in length
96h-LC ₅₀ derived by McConnell	1,320 mg/L	800 mg/L
Recalculated (logistic fit)	96h-LC ₅₀ 1,339 mg/L	781 mg/L
	95% CL: 1,249 – 1,436 mg/L	95% CL: 642 – 950 mg/L
	r ² : 0.995	r ² : 0.983

A2.4 Anonymous (Publication #1187 in Molybdenum database)

Analysis of the reported raw toxicity data in this publication revealed that this study reported the same data as given in McConnell (see section A2.3). There are, however some differences in the presented data that need to be clarified:

- Reported Mo-concentrations of the chronic exposure in this study are 18.46, 4.36, 1.1, 0.3, 0.05 and 0.0 ppm, suggesting that the reported values in McConnell (17, 4, 1, 0.3, 0.05 and 0 ppm) are nominal values and not measured values;
- Exposure time in this study is 18 months, whereas McConnell refers to an exposure time of 1 year; % mortalities at the different exposure levels, however, are identical for both studies;
- This study reports effects on mortality and length after 18 months, whereas McConnell only reports effects on mortality after 12 months.

A2.5 Canton et al, draft publication, 2006. Acute and chronic molybdenum toxicity to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, *Chironomus tentans*, *Girardia dorocephala* and *Pimephales promelas*.

- Chronic tests with *D. magna*, *C. dubia* and *P. promelas* were performed according to international Guidelines (ASTM-Guidelines);
- Tests were carried out in duplicate;
- Molybdenum salt is reported: sodium molybdate;
- Mo-concentrations were measured used for the determination of effect levels (e.g., reported NOECs and LOECs are not equal to the reported nominal values);
- Test media were monitored, and a summary of water quality characteristics that did not vary substantially with molybdenum concentration is given below;
- EC₁₀s (preferred over NOECs) are not reported, but bounded NOECs are available for *D. magna* and *P. promelas* (all endpoints) and *C. dubia* (mortality); unbounded LOEC is reported for reproduction of *C. dubia*. As an alternative, the default value of EC₂₀/2 may be used for the latter species and endpoint;
- The NOEC_{survival}-values for *D. magna* are 377.0 and 368.3 mg Mo/L (average: 373 mg/L) ; based on reproduction the NOECs are 192.3 and 96.3 mg/L (average: 136 mg/L);
- The NOEC_{survival}-values for *P. promelas* are 462.8 and 714.6 mg Mo/L (average: 575 mg/L) ; based on reproduction the NOEC is 143.8 mg/L;
- The estimated NOEC_{survival}-values for *C. dubia* (EC₂₀ / 2) are 110.8 and 83 mg/L (average: 96.9 mg/L); ; based on reproduction the estimated NOECs are 37 and 40 mg/L (average; 38.5 mg/L).

Table 3: Reported physicochemical properties of the test media used by Canton et al (2006)

	Temperature °C	Hardness mg/L as CaCO ₃	Ammonia (µg/L)	pH
<i>Daphnia magna</i>	20.1 ± 0.3	83.1 ± 3.5	61 ± 36	7.88 ± 0.39
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	25.1 ± 0.2	84.0 ± 1.1	69 ± 59	7.87 ± 0.24
<i>Pimephales promelas</i>	24.9 ± 0.2	92.6 ± 6.2	23 ± 11	7.66 ± 0.18

D. magna & *P. promelas*

- ⇒ **Q1-study (useful for risk assessment and other regulatory purposes).** Detailed information on the physicochemistry of the test medium during the test is available, test methods and used statistics are well described this study, and reported endpoints are based on measured molybdenum concentrations

C. dubia

- ⇒ **Q1/Q2-study (useful for risk assessment and other regulatory purposes).** Detailed information on the physicochemistry of the test medium during the test is available, test methods and used statistics are well described this study, and reported endpoints are based on measured molybdenum concentrations. The NOEC_{survival} is considered as a **Q1-data point**, but for reproduction no bounded NOEC could be derived. The reported EC₂₀-value (76.9 mg/L) offers an alternative for estimating a NOEC-value (EC_{20/2} = 38.5 mg/L; **Q2-data point**). This estimated NOEC-value for reproduction can be used if no other reliable values (i.e., bounded NOECs or EC₁₀-values) are available for this species and endpoint.

A2.6 Huntington Research Centre, 1994a. Ammonium dimolybdate - Algal growth inhibition.

- Test was performed according to Standard Guidelines, and test was performed with the standard species *Scenedesmus subspicatus*;
 - Cell growth in the control exceeded the minimal requirement;
 - Clear effect-concentration relationship was obtained;
 - Molybdenum salt is reported: ammonium dimolybdate;
 - Nominal values were used for the derivation of effect levels, as "Test concentrations were not verified by chemical analysis, at the request of the Sponsor".
 - pH was measured at the start and end of the test, and values are reported
 - Raw data (absorbance values) are reported, thus allowing to derive EC₁₀-levels
 - Reported endpoints are EbC₅₀ (41 mg/L), ErC₅₀ (>100 mg/L) and NOEL (25mg/L) (No Observed Effect Level = NOEC)
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes).** As the reported effects levels are based on nominal Mo-levels, and Mo-levels were not measured as specific request of the sponsor, this study is considered as a Q3-study (unreliable study).

A2.7 Huntington Research Centre, 1994b. Sodium molybdate dihydrate - Algal growth inhibition.

- Test was performed according to Standard Guidelines, and test was performed with the standard species *Scenedesmus subspicatus*;
- Cell growth in the control exceeded the minimal requirement;
- Clear effect-concentration relationship was obtained;
- Molybdenum salt is reported: sodium molybdate dihydrate;
- Nominal values were used for the derivation of effect levels, as "Test concentrations were not verified by chemical analysis, at the request of the Sponsor";
- pH was measured at the start and end of the test, and values are reported;
- Raw data (absorbance values) are reported, thus allowing to derive EC₁₀-levels;
- Reported endpoints are EbC₅₀ (48 mg/L), ErC₅₀ (>100 mg/L) and NOEL (12.5 mg/L).

- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes).** As the reported effects levels are based on nominal Mo-levels, and Mo-levels were not measured as specific request of the sponsor, this study is considered as a Q3-study (unreliable study).

A2.8 Huntington Research Centre, 1994c. Molybdenum oxide (technical) - Algal growth inhibition.

- Test was not performed according to Standard Guidelines: Only one Mo-concentration (100 mg/L) was tested and reported;
 - A standard algal species was tested, namely *Scenedesmus subspicatus*;
 - Cell growth in the control exceeded the minimal requirement;
 - Test substance is reported, namely molybdenum oxide (technical);
 - Nominal value was reported, as "Test concentrations were not verified by chemical analysis, at the request of the Sponsor";
 - pH was measured at the start and end of the test, and values are reported;
 - Raw data (absorbance values) are reported, thus allowing to calculate whether there is a significant effect between the control and the tested Mo-concentration;
 - No EbC₅₀, ErC₅₀ or bounded NOEL could be calculated for this test.
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment or other regulatory purposes).** Only one test concentration was tested, and the reported test concentration is not measured but nominal: Mo-levels were not measured as specific request of the sponsor. No bounded NOEC or EC₁₀ can be derived with the data. Therefore, this study is considered as a Q3-study for risk assessment purposes.

A2.9 Huntington Research Centre, 1994d. Molybdenum oxide (pure) - Algal growth inhibition.

- Test was not performed according to Standard Guidelines: Only one Mo-concentration (100 mg/L) was tested and reported;
 - A standard algal species was tested, namely *Scenedesmus subspicatus*;
 - Cell growth in the control exceeded the minimal requirement;
 - Test substance is reported, namely molybdenum oxide (pure);
 - Nominal value was reported, as "Test concentrations were not verified by chemical analysis, at the request of the Sponsor";
 - pH was measured at the start and end of the test, and values are reported;
 - Raw data (absorbance values) are reported, thus allowing to calculate whether there is a significant effect between the control and the tested Mo-concentration;
 - No EbC₅₀, ErC₅₀ or bounded NOEL could be calculated for this test.
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment or other regulatory purposes).** Only one test concentration was tested, and the reported test concentration is not measured but nominal: Mo-levels were not measured as specific request of the sponsor. No bounded NOEC or EC₁₀ can be derived with the data. Therefore, this study is considered as a Q3-study for risk assessment purposes.

A2.10 Huntington Research Centre, 1996. Sodium molybdate 241/32 - Algal growth inhibition.

- Test was performed according to Standard Guidelines, and test was performed with the standard species *Selenastrum capricornutum*;
 - Cell growth in the control exceeded the minimal requirement;
 - Clear effect-concentration relationship was obtained;
 - Molybdenum salt is reported: sodium molybdate dihydrate;
 - Nominal values were used for the derivation of effect levels, as "Test concentrations were not verified by chemical analysis, at the request of the Sponsor";
 - pH was measured at the start and end of the test, and values are reported;
 - Raw data (absorbance values) are reported, thus allowing to derive EC₁₀-levels;
 - Reported endpoints are EbC₅₀ (>100 mg/L), ErC₅₀ (>100 mg/L) and NOEL (4.6 mg/L).
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment purposes).** As the reported effects levels are based on nominal Mo-levels, and Mo-levels were not measured as specific request of the sponsor, this study is considered as a Q3-study (unreliable study).

A2.11 Diamantino et al., 2000. Toxicity of sodium molybdate and sodium dichromate to *Daphnia magna* Straus evaluated in acute, chronic and acetylcholinesterase inhibition tests.

- Chronic test with *Daphnia magna* was performed according to Standard Guidelines (static renewal, 21 days exposure, six treatment concentrations + control);
 - Test medium was ASTM hard water with an organic additive (not further specified);
 - No information on physicochemistry during the test period or at the end of the test is reported (e.g., pH);
 - Tested salt is reported: sodium molybdate;
 - Only nominal concentrations are reported, no indication is given that Mo-levels were measured during the test period;
 - Reported end parameter are NOEC, LOEC and EC₅₀, and this for three different endpoints: mortality, reproduction and total growth;
 - Raw effects data are not provided, but effect-concentration relationship is shown in Figure 6 of this publication;
 - Total growth and reproduction were the most sensitive endpoints, with a nominal NOEC of 50 mg/L.
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment or other regulatory purposes).** As the reported effects levels are based on nominal Mo-levels, and no information of test physicochemistry is provided, this study should be considered as a Q3-study (unreliable study).

A2.12 Fletcher et al, 1997. Scientific Criteria document for the development of an interim provincial water quality objective for molybdenum.

This publication reports some additional chronic data, but no details on test methodology or test conditions, i.e., only effect levels were reported. The original publications are currently not reviewed yet:

Colmano G, 1973. Molybdenum toxicity: abnormal cellular division of teratogenic appearance in *Euglena gracilis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 9 (6), 361-364.

Den Dooren De Jong LE, 1965. Tolerance of *Chlorella vulgaris* for metallic and non-metallic ions. J. Microbiol. Ser. 31, 301-313.

Sakaguchi T, Nakajima A, Horikoshi T, 1981. Studies on the accumulation of metal elements in biological systems XVIII. Accumulation of molybdenum by green microalgae. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 12, 84-89.

A2.13 Naddy et al., 1995. Toxicity of arsenic, molybdenum and selenium combinations to *Ceriodaphnia dubia*.

This study examined the sublethal interactive effects of molybdenum (as sodium salt of molybdate) on *Ceriodaphnia dubia* using the three-brood static renewal toxicity test.

- Test species and culture medium and culture conditions are well described;
 - Test methods followed standard guidelines, and test conditions were similar to culture conditions;
 - Tested salt is reported: sodium molybdate;
 - Physicochemistry of the test medium was monitored daily: pH, hardness, alkalinity, conductivity, dissolved oxygen. Measured values, however, are not reported;
 - Molybdenum levels were measured, and calculated effect concentrations are based on measured values;
 - No NOEC or EC₁₀ is derived: endpoints that were calculated are 8d-IC₅₀, 8d-IC₂₅ and 8d-IC_{12.5} (IC: inhibition concentration), and effect levels were 79.7 mg/L, 47.5 mg/L and 34.0 mg/L, respectively. The latter value can be used to estimate an 8d-NOEC of 17 mg/L, i.e., IC_{12.5} divided by 2 (TGD-guideline).
- ⇒ **Q2/Q3-study (useful/not useful for risk assessment or other regulatory purposes).** The lack of a reported NOEC or EC₁₀ results in an estimated 8d-NOEC-value of 17 mg/L (8d-IC_{12.5} of 34 mg/L divided by 2). Secondly, no detailed information on the physicochemistry of the test medium during the test is available. Therefore, it is recommended that this estimated NOEC-value may only be used if no other reliable values are available for this species and endpoint.

A2.14 Kimball G, 1978. The effects of lesser known metals and one organic to fathead minnows (*Pimephales promelas*) and *Daphnia magna*.

In this study acute and chronic bioassays were conducted using both flow-through and static systems to determine the short and long term effects of molybdenum on survival and reproduction of the test organisms. The source of water for all test media was hard and came from a well tapping the Jordan sandstone stratum underlying the Minneapolis-St.Paul metropolitan area. The only treatment of the water prior to the test was catalytic removal of iron (0.1 mg/L). Hardness was not reported but Kimball stated that the water hardness was 4-5 times as hard as that used by Biesinger and Christensen (1972). The latter authors used Lake Superior water with a hardness of 45.3 mg/L as CaCO₃ as test medium, and based on this information can be calculated that the average hardness of the well water used in this study is 204 mg/L as CaCO₃ (181-227 mg/L as CaCO₃).

Chronic test with D. magna

Daphnia magna were obtained from a commercially available source (Aquatic Life Company, Minneapolis) and their identification was confirmed from three reference sources. The chronic toxicity test was initiated with neonates (12 ± 12 hours old) and was conducted during 28 days as static renewal test using duplicate sets of seventy 100 mL beakers. Beakers were split into one control and six treatments with 10 beakers per treatment. Each beaker contained 50 mL of test solution and individual daphnia were assigned across treatments randomly. Molybdenum was added as MoO₃ and the test range was 0.36 to 8.68 mg Mo/L. Three times per week each daphnid was transferred by pipette to the renewal solution. Neonates and the molts of the adults were counted after the adults were transferred. Water chemistries was sampled on a regular basis and analysis included temperature, pH, oxygen, alkalinity, as well as the toxicant concentrations. Molybdenum determinations were made using atomic absorption spectrophotometry using both carbon rod and flame spectroscopy. The mean test temperature, pH and alkalinity were 20.5°C, 8.37, and 185 mg/L as CaCO₃, respectively.

The chronic effects level of 0.93 mg Mo/L that was reported by Kimball (1978) represented the 28d-LC₅₀. This endpoint is not useful for both classification and effect assessment purposes. However, with the raw data that are added in Annex to the Kimball-study, it was possible to calculate a 21d-EC₁₀ and 21d-NOEC, based on the intrinsic rate of natural increase (r_m). The derivation of the r_m value is presented in Equation 1 (Southwood, 1976):

$$\sum_{x=0}^{21} l_x \cdot m_x \cdot e^{-(r_m) \cdot x} = 1 \quad (\text{Eq. 1})$$

with l_x the age-specific survival and m_x the reproduction rate.

The calculated r_m -values, the percentage of inhibition or r_m compared to the control, and the calculated 21d-EC₁₀/NOEC are presented hereunder.

The 21d-EC₁₀ and 21d-NOEC values on r_m are a factor of 7.5 and 4.7, respectively, higher than the 28d-LC₅₀. This difference is due to the fact that the major part of adult daphnia mortality ate the lower test concentrations occurred between day 21 and day 28.

Mo-concentration (mg/L)	r_m -value	% inhibition compared to control
Control	0.3683	
0.36	0.3855	-4.66
0.67	0.3519	4.47
1.15	0.3909	-6.12
2.19	0.3610	2.00
4.41	0.3678	0.14

8.68	0.3033	17.7
21d-EC₁₀	6.98 mg/L (95% CL: 5.61-8.70)	
21d-NOEC	4.41 mg/L	

=> **Q1-study (useful for risk assessment and other regulatory purposes)**. This study can be considered as a study of the highest quality (Q1-study), as physicochemistry was monitored and reported during the test period, Mo-levels were measured and test was performed according to OECD-Guidelines for chronic testing of daphnids. The reported endpoints (28d-LC₅₀) is not useful for risk assessment purposes, but the raw data that were available allowed the derivation of a 21d-EC₁₀/NOEC. As the EC₁₀ is preferred over the NOEC is risk assessments, the value of 6.98 mg Mo/L is considered as the 'safe' chronic concentration for *D. magna*.

A2.15 McDevitt CA, Pickard J, Andersen K, Hickoff C, 1999. Toxicity of molybdenum to early life stages of rainbow trout in on site bioassays. In: Proceedings of the 1999 Workshop on Molybdenum Issues in Reclamation. Kamloops BC, 24 September. Edited by Brice WA, Hart B, Howell C, pp 120-129.

Discharge water collected in the East Denak Pit (Endako Mine, British Columbia, Can.) can reach concentrations of 30 mg/L total molybdenum, but does not contain any contaminants other than those leached from the rocks.

Tests were conducted with pit water that was spiked with Na₂MoO₄·2H₂O to obtain a total molybdenum concentration of 30 mg/L (nominal); ambient concentrations were measured before addition of molybdenum in order to determine the dosage required. Hardness of the pit water ranged from 301-316 mg/L as CaCO₃. Other parameters (e.g., pH) were measured but were not reported.

- The flow-through test was not performed in the laboratory, but was conducted in the field under controlled conditions. Test method was a modification of Environment Canada (1997);
- Test organisms were eyed eggs of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*);
- 5 concentrations were tested: 100%, 75%, 50%, 25% and 0% spiked pit water, diluted with stream water (Watkins Creek) that contains Mo-levels below the detection limit;
- Physicochemistry of the dilution water is not reported;
- Each concentration trial consisted of four replicates, for a total of 32 incubation chambers;
- 60 eyed eggs were placed in each of the test chamber at the start of the test;
- The fish were fed three times/day for 30 days once they reached the swim-up stage; the test lasted 60 days;
- Endpoints were mortality, deformities and behaviour;
- Survival percentages in the control of the embryos, alevins and fry were 95, 92 and 99%, respectively. The observed survival percentages at the highest exposure concentration were 93, 91 and 94% for these stages, respectively.
- 60d-NOECs were >30 mg Mo/L, and this for all endpoints. Statistics are not reported

⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes)**. Mo-levels are not measured after spiking, although indication is given that nominal values are close to measured values. Dilution medium is not defined, pH of the test medium during the test is not reported and reported effect levels are unbounded values (NOEC_{survival} > 30 mg/L). No data or statistics are reported on behaviour or deformities.

A2.16 Pickard J, McKee P, Stroiazzo J, 1999. Site specific multispecies toxicity testing of sulphate and molybdenum spiked mining effluent and receiving water. In: Proceedings of the 1999 Workshop on Molybdenum Issues in Reclamation. Kamloops BC, 24 September. Edited by Brice WA, Hart B, Howell C, pp 86-95.

The chronic toxicity of molybdenum using a receiving water and effluent from a mine in British Columbia was determined in a 30d- salmonid embryo/alevin test with the rainbow trout (*Oncorhynchus clarki*).

- General test procedures were based on the Environment Canada Document "Toxicity tests using early life stages of salmonid fish (Rainbow trout, Coho salmon, or Atlantic salmon)" (1997);
 - The static renewal test was performed at $14 \pm 1^\circ\text{C}$ and ended 7 days after 50% of the control embryos had hatched (30d-exposure test);
 - No further information on test methodology is provided in the paper (e.g., number of concentrations, tested Mo-concentrations);
 - Test water consisted of Brenda Mine Pit water mixed with Trepanier Creek water;
 - Test water was spiked with sodium molybdate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
 - Laboratory culture water and unspiked Trepanier Creek/Brenda Mine Pit water served as negative controls;
 - Physicochemistry of the test media is not reported;
 - Reported values indicate that Mo-levels were measured in the test concentrations;
 - No survival/hatching percentages in control or Mo-spiked media are reported; used statistics are not mentioned in the paper
 - No effects were observed at the highest test concentration (87.8 mg Mo/L);
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes).** The reported value of the unbounded NOEC (i.e., 87.8 mg/L) indicates that this represents a measured concentration (highest tested nominal level was 90 mg/L). However, dilution media are not defined, physicochemistry of the test medium during the test is not reported, test methodology is poorly described, and reported effect levels are unbounded values (NOEC > 87.8 mg/L). No data or statistics are reported.

A2.17 Ennevor BC, 1993. Effects of sodium molybdate and Endako mine effluent on developing embryos and alevin of coho salmon at Capilano river hatchery. Fisheries and Oceans Canada, Habitat Management Branch. Vancouver BC Draft Report.

Developing coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) embryos were exposed to sodium molybdate from 30 minutes post-fertilisation to 20 days post hatch.

- The experimental flow-through test design consisted of two controls and five sodium molybdate treatments, each treatment having three replicates with ± 200 eggs/replicate;
 - Duration of the test period was 20 weeks and temperature ranged from 3°C to 7°C ;
 - Test medium was Capilano river water (pH 6.74; hardness 7.4 - 7.6 mg/L; alkalinity 3.4 mg/L);
 - Nominal test concentrations were 0.94, 1.88, 3.75, 7.50 and 15 mg/L; average measured dissolved Mo-levels were 1.2, 1.4, 5.5, 7.2 and 19.5 mg Mo/L;
 - pH at the start ranged between 6.37 and 6.47; pH at the end of the test period was situated between 6.45 and 6.52;
 - Hardness of the test media was situated between 4.1 and 5.1 mg/L;
 - Endpoints were mortality, deformations and hatching percentage;
 - Development and behaviour appeared to be normal in all treatments; mortalities were randomly spread, and mortalities at the highest concentration of Mo ranged between 2 and 4%;
 - No effects were observed at the highest concentration
- ⇒ **Q3-study (not useful for risk assessment and other regulatory purposes).** Although this study was well performed (monitoring of water parameters during the test period, Mo-levels were measured, etc.), the outcome of this study is an unbounded NOEC of >19.5 mg/L. It is recommended not to use this type of data for risk assessment purposes.

A2.18 Rodriguez PH, 2007. Molybdenum: toxicity to *Daphnia magna* and *Pseudokirchneriella subcapitata* (micro algae). Chilean Mining and Metallurgy Research Center, Final Report to the International Molybdenum Association. 17 p.

In this study chronic bioassays were conducted with algae and invertebrates for determining the toxicity of molybdenum, added as sodium molybdate dihydrate

Bioassay with the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata*

- Test was conducted in accordance with OECD Guideline N. 201 "Alga, growth inhibition test";
- Cultures were obtained from Aquatic Research Organisms, Hampton, NH, USA;
- Algal cultures were exposed to 5 test concentrations (3 replicates/concentration) of molybdenum plus one untreated control (100 mL/Erlenmeyer, cell density at start of the test was 1.10^4 cells/mL);
- Two test media were used to evaluate molybdenum growth inhibition of *P. subcapitata*: OECD (ISO-medium and AAP (US-EPA) medium);
- Tests were performed at 22 ± 1.5 °C;
- pH in US-EPA medium ranged between 7.81 and 7.11, and between 8.12 and 7.96 in OECD medium;
- Test substance was added as sodium molybdate dihydrate, and Mo-levels were determined by flame atomic absorption spectroscopy technique.
- Measured test concentrations in OECD medium were 1.6, 3.4, 7.3, 15.4 and 30.4 mg/L of dissolved Mo;
- Measured test concentrations in US-EPA medium were 8.0, 50.8, 107.4, 213.2 and 419.5 mg/L of dissolved Mo;
- The EC₅₀ and NOEC were based on the cell densities of the various treatments;
- Reported NOEC-values are presented in Table 4.

Chronic test with *Daphnia magna*

- Test was conducted in accordance with OECD Guideline N. 211 "*Daphnia magna* reproduction test";
- Cultures were obtained from Aquatic Research Organisms, Hampton, NH, USA;
- Test was performed with juveniles (< 24h old) tested for 21 days in a static renewal toxicity test (renewal of the test medium at least three times/week);
- Five concentrations and a control were tested;
- For each concentration, 10 organisms were individually exposed to the molybdenum compound in polyethylene cups (70 mL of capacity) containing 50 mL of test medium;
- Synthetic hard water was used as test medium (as recommended in EPA, 1993 and EPA, 2002) (pH of 8.47; hardness of 168 mg/L as CaCO₃);
- Test was performed at 20°C, with a photoperiod of 16h light and 8h darkness;
- Animals were fed at least three times/week (algal mix of *P. subcapitata* and *C. reinhardtii* in a 3:1 ratio);
- Test substance was added as sodium molybdate dihydrate, and Mo-levels were determined by flame atomic absorption spectroscopy technique.
- Measured test concentrations were 24.1, 49.9, 89.1, 134.5 and 184.5 mg/L of dissolved Mo.
- The stability of the dissolved molybdenum concentrations in the presence of food were verified by flame-AAS;
- The mean number of offspring per parent animal in each Mo-treatment was compared to that in the control using a hypothesis test with the parametric "Dunnett's Procedure" to determine the NOEC;
- The reported NOEC-level is presented in Table 4.

Table 4: Test results of chronic toxicity tests with sodium molybdate dihydrate (data from Rodriguez, 2007)

Test organism	Test medium	Effect concentration (mg Mo/L)
<i>P. subcapitata</i>	US-EPA medium	72h-NOEC: 8.0.
<i>P. subcapitata</i>	OECD-medium	72h-NOEC: 3.4
<i>D. magna</i>	Synthetic hard water	21d-NOEC: 49.9

Reliability of the study for classification purposes:

This study is considered as a study of the highest quality (Q1-study): Mo-concentrations were measured and reported effect levels are based on these measured levels. The pH in the test media (alga) is reported, and composition of the various test media is reported. Testing methods are properly described, and are in line with recommended international testing guidelines.

With regard to the algal study, however, a NOEC based on growth rate would further increase the ecological relevance of the derived effect concentration. It should be noted that biomass is a more sensitive endpoint compared to growth rate. Therefore the use of the reported 72h-NOEC can be considered as a conservative approach.

Secondly, it is also recommended to derive EC₁₀-levels instead of NOEC-levels as the latter values depend on the used test concentrations. Both values, however, are acceptable for classification and risk assessment purposes.

A3 Conclusion

Data for algae

For algae, 2 highly reliable data points were found (Rodriguez, 2007).

Data for crustaceans

For crustaceans, three highly reliable study reporting a 21d-EC₁₀/NOEC for *Daphnia magna* was found: the Kimball-study (1978), the study reported by Rodriguez (2007), and the Canton et al.-study (2006, Draft manuscript). The latter study also provides high-quality data for *Ceriodaphnia dubia*. For *C. dubia*, there is an additional study (Naddy et al, 1995) with a Q2/Q3 classification.

Data for amphibians

No reliable studies were found.

Data for fish

For the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* there was one highly reliable study (Davies et al., 2005) and one satisfactory study (McConnell, 1977). A highly reliable study was also available for the fathead minnow *Pimephales promelas* (Canton et al, 2006; draft publication).

Anexo 5

Extracto de :

Sistema Aguas Claras Embalse Caren Y Sistema Aguas Claras Embalse Los Leones. Informe Final. Descargas Al Ambiente De Aguas De La Minería: Evaluación Químico Ecotoxicológica De Las Aguas Claras De Relave. Centro De Investigación Minera Y Metalúrgica, Cimm. 2001.

" MONITOREO ECOTOXICOLOGICO

El número total de animales utilizados en cada bioensayo correspondió a 120. Se utilizaron 20 animales para cada concentración de efluente, incluido el control, 4 contenedores, cada uno de ellos contuvo 5 animales. En alguno de los contenedores de los bioensayos realizados, el número de dañidos tuvo variaciones de un animal extra o de menos en cuyo caso varió los totales parciales de animales en cada concentración, esto último no afecta de modo alguno los resultados, ya que las metodologías (anexo 1) contemplan estas diferencias para la determinación de las LC50.

La incorporación de un sitio extra de muestreo (Rapel en Punta Arenas), y posterior realización de bioensayos con esta aguas, permitió realizar sólo dos bioensayos con cada una de las especies de dañidos en los sectores de Embalse Loncha, Rapel en Desembocadura Alhué y Rapel en Punta Arenas.

RESUMEN DE RESULTADOS DE LOS BIOENSAYOS

Nº bioensayo	Muestra	Especie	LC ₅₀	Observación
1	Carén antes de junta con Alhué	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
2	Carén antes de junta con Alhué	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
3	Carén antes de junta con Alhué	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente
4	Alhué antes de junta con Carén	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
5	Alhué antes de junta con Carén	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
6	Alhué antes de junta con Carén	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente
7	Alhué en Quilamuta	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
8	Alhué en Quilamuta	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
9	Alhué en Quilamuta	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente
10	Embalse Loncha	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
11	Embalse Loncha	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente
12	Rapel en desembocadura Alhué	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
13	Rapel en desembocadura Alhué	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente
14	Rapel en Punta Arenas	D. magna	-	No se detectó toxicidad en el efluente
15	Rapel en Punta Arenas	D. pulex	-	No se detectó toxicidad en el efluente

Апехо 6

INVITED REVIEW

The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production

BRENT N. KAISER*, KATE L. GRIDLEY, JOANNE NGAIRE BRADY,
THOMAS PHILLIPS and STEPHEN D. TYERMAN*Discipline of Wine and Horticulture, School of Agriculture and Wine, University of Adelaide,
PMB 1 Glen Osmond, South Australia 5064, Australia*

Received: 18 February 2005 Returned for revision: 22 March 2005 Accepted: 2 May 2005

- **Background** The importance of molybdenum for plant growth is disproportionate with respect to the absolute amounts required by most plants. Apart from Cu, Mo is the least abundant essential micronutrient found in most plant tissues and is often set as the base from which all other nutrients are compared and measured. Molybdenum is utilized by selected enzymes to carry out redox reactions. Enzymes that require molybdenum for activity include nitrate reductase, xanthine dehydrogenase, aldehyde oxidase and sulfite oxidase.
- **Scope** Loss of Mo-dependent enzyme activity (directly or indirectly through low internal molybdenum levels) impacts upon plant development, in particular, those processes involving nitrogen metabolism and the synthesis of the phytohormones abscisic acid and indole-3 butyric acid. Currently, there is little information on how plants access molybdate from the soil solution and redistribute it within the plant. In this review, the role of molybdenum in plants is discussed, focusing on its current constraints in some agricultural situations and where increased molybdenum nutrition may aid in agricultural plant development and yields.
- **Conclusions** Molybdenum deficiencies are considered rare in most agricultural cropping areas; however, the phenotype is often misdiagnosed and attributed to other downstream effects associated with its role in various enzymatic redox reactions. Molybdenum fertilization through foliar sprays can effectively supplement internal molybdenum deficiencies and rescue the activity of molybdoenzymes. The current understanding on how plants access molybdate from the soil solution or later redistribute it once in the plant is still unclear; however, plants have similar physiological molybdenum transport phenotypes to those found in prokaryotic systems. Thus, careful analysis of existing prokaryotic molybdate transport mechanisms, as well as a re-examination of known anion transport mechanisms present in plants, will help to resolve how this important trace element is accumulated.

Key words: Molybdenum, molybdate transport, nitrate reductase, Moco, *Vitis vinifera*, Merlot, Millerandage, sulfate transport, nitrogen fixation, nitrogen metabolism, plant nutrition.

INTRODUCTION

Molybdenum is a trace element found in the soil and is required for growth of most biological organisms including plants and animals. Molybdenum is a transition element, which can exist in several oxidation states ranging from zero to VI, where VI is the most common form found in most agricultural soils. Similar to most metals required for plant growth, molybdenum has been utilized by specific plant enzymes to participate in reduction and oxidative reactions. Molybdenum itself is not biologically active but is rather predominantly found to be an integral part of an organic pterin complex called the molybdenum co-factor (Moco). Moco binds to molybdenum-requiring enzymes (molybdoenzymes) found in most biological systems including plants, animals and prokaryotes (Williams and Frausto da Silva, 2002). The availability of molybdenum for plant growth is strongly dependent on the soil pH, concentration of adsorbing oxides (e.g. Fe oxides), extent of water drainage, and organic compounds found in the soil colloids. In alkaline soils, molybdenum becomes more soluble and is accessible to plants mainly in its anion form as MoO_4^- . In contrast, in acidic soils (pH <5.5) molybdenum availability decreases as anion adsorption to soil oxides increase (Reddy *et al.*, 1997). When plants are grown under molybdenum deficiency, a number of varied phenotypes develop that

hinder plant growth. Most of these phenotypes are associated with reduced activity of molybdoenzymes. These enzymes include the primary nitrogen assimilation enzymes such as nitrate reductase (NR), and the nitrogen-fixing enzyme nitrogenase found in bacteroids of legume nodules. Other molybdoenzymes have also been identified in plants including xanthine dehydrogenase/oxidase involved in purine catabolism and ureide biosynthesis in legumes, aldehyde oxidase (AO) that is involved in ABA biosynthesis, and sulfite oxidase that can convert sulfite to sulfate, an important step in the catabolism of sulfur-containing amino acids (Mendel and Haensch, 2002; Williams and Frausto da Silva, 2002). There are recent review articles on molybdoenzymes in plants, animals and prokaryotes (Mendel and Haensch, 2002; Williams and Frausto da Silva, 2002; Sauer and Frebort, 2003) that cover the extensive literature on the regulation and formation of Moco and the activity of Moco with molybdenum-dependent apoenzymes. Instead of re-examining this important component of molybdenum nutrition, this review will instead re-examine the effects of molybdenum nutrition in agricultural plants and explore the poorly understood aspect of molybdenum transport into and within the plant. In prokaryotes and lower-order eukaryotes, the molybdate transport systems have been well defined and are characterized at both the physiological, biochemical and genetic levels (Grunden and Shanmugam, 1997; Self *et al.*, 2001). Unfortunately, this wealth of sequence information has not

* For correspondence. E-mail brent.kaiser@adelaide.edu.au

translated into an improved understanding of how eukaryotic systems transport molybdenum. This is not surprising as the primary molybdate transport systems present in prokaryotes are members of the ATP-binding cassette (ABC) protein superfamily. Members of this superfamily extend into plants; however, the numbers are large, where in *Arabidopsis* alone there is predicted to be at least 129 putative proteins in the genome (Sanchez-Fernandez *et al.*, 2001). Secondly a large number of other putative transport proteins that may encode molybdate transport systems still remain uncharacterized in sequenced plant genomes (Schwacke *et al.*, 2003). Nevertheless, the prokaryotic systems are good starting points to discuss the types of eukaryotic systems that may exist and direct future research into specifically identifying plant molybdenum transport systems.

AVAILABILITY OF MOLYBDENUM IN AGRICULTURAL SOILS

Molybdenum is present in the lithosphere at average levels up to 2.3 mg kg^{-1} but can increase in concentration (300 mg kg^{-1}) in shales that contain significant organic matter (Fortescue, 1992; Reddy *et al.*, 1997). In agricultural soils, molybdenum is present as many different complexes depending on the chemical speciation of the soil zone. Mineral forms of molybdenum found in rocks include molybdenite (MoS_2), wulfenite (PbMoO_4) and ferrimolybdenite [$\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$] (Reddy *et al.*, 1997). Release of molybdenum from solid mineral forms is through weathering, a process involving continual solution and oxidation reactions (Lindsay, 1979; Gupta, 1997a). Dissolved molybdenum available to plants is commonly found in the soluble MoO_4^- anion form (Lindsay, 1979). Above pH 4–23, MoO_4^- is the common anion followed in decreasing order by $\text{MoO}_4^- > \text{HMO}_4^- > \text{H}_2\text{MoO}_4^0 > \text{MoO}_2(\text{OH})^+ > \text{MoO}_2^{2+}$ (Lindsay, 1979). Once in solution, the MoO_4^- anion is subject to normal anion adsorption/desorption reactions, which are dependent on the specific chemistry of the soil solution. MoO_4^- can adsorb onto positively charged metal oxides (Fe, Al, Mn), clay minerals, dissolved organic compounds and carbonates. The adsorption of molybdenum onto positively charged metal oxides is strongly pH dependent with maximum adsorption occurring between pH 4 and 5 (K. S. Smith *et al.*, 1997b). As the soil solution becomes more alkaline MoO_4^- availability increases. Every unit increase above pH 3, MoO_4^- solubility increases approx. 100-fold primarily through decreased adsorption of metal oxides (Lindsay, 1979). Consequently, the application of lime to agricultural soils has been an important tool to adjust soil pH and increase soluble molybdate.

Soluble MoO_4^- can also form ionic complexes with various ions in solution including Na, K, Ca and Mg, and can also be complexed with organic matter, particularly humic and fulvic acids (Jenne, 1977). The formation of these complexes can decrease the amount of MoO_4^- bound by metal oxides, increasing the amount of available MoO_4^- in solution (Reddy *et al.*, 1997). Soil moisture also influences MoO_4^- availability where poorly drained wet soils (e.g. peat marshes, swampy organic rich soils) tend to accumulate MoO_4^- to high levels (Kubota *et al.*, 1963). Many plants that grow under these

soil conditions display high internal molybdenum levels, which can result in molybdenosis in ruminant animals if the material is used as animal feed (Scott, 1972; Gupta, 1997a). In contrast, well-drained sandy soils have been shown to leach significant amounts of applied molybdenum (Jones and Belling, 1967). The retention of molybdenum in sandy soils is very much pH dependent as acidic sands release negligible amounts of molybdenum in the leachate (Riley *et al.*, 1987). Thus, soils rich in organic matter and with poor drainage traditionally accumulate soluble molybdate, while sandy soils are subject to molybdenum leaching but in a pH-dependent manner (Bloomfield and Kelso, 1973; Karmian and Cox, 1978; Riley *et al.*, 1987).

IDENTIFICATION OF MOLYBDENUM AS AN ESSENTIAL PLANT ELEMENT

The requirement of molybdenum for plant growth was first demonstrated by Arnon and Stout (1939) using hydroponically grown tomato. Plants grown in nutrient solution without molybdenum developed characteristic phenotypes including mottling lesions on the leaves, and altered leaf morphology where the lamellae became involuted, a phenotype commonly referred to as 'whiptail' (Arnon and Stout, 1939). The only trace element that could eliminate these phenotypes was found to be molybdenum. The first reported case of molybdenum deficiency in an agricultural context occurred in mixed pasture grasses in the Lofty ranges of South Australia (Anderson, 1942). Local pastoralists reported significant failures of well-irrigated pastures containing subterranean clover (*Trifolium subterraneum*), perennial rye grass and *Phalaris tuberosa*. These pastures had been sown on sandy loam (ironstone) soils, which were low in nitrogen, slightly acidic (pH 5.5–6), rich in iron oxides and had received significant superphosphate treatments in previous years (Anderson, 1942, 1946). It was noted at the time that clover could grow in these soils after liming or when wood-ash was present (Anderson, 1942). It was later identified that molybdenum was the most abundant trace element present in the soluble and insoluble extractions of the wood-ash. Molybdate application at 2 lb per acre was capable of increasing lucerne yields approx. 3-fold over control plots (Anderson, 1942). Shortly thereafter, Davies (1945) and Mitchell (1945) demonstrated that the whiptail phenotype in cauliflower could be overcome with the addition of molybdenum to the soil. Walker (1948) observed that tomato grown in molybdenum-deficient serpentine soils could be rapidly rescued (return of green colour, loss of mottling) with application of sodium molybdate directly to the soil, or by leaf painting and leaf infiltration.

In contrast, molybdenum toxicity in plants under most agricultural conditions is rare. In tomato and cauliflower, plants grown on high concentrations of molybdenum will have leaves that accumulate anthocyanins and turn purple, whereas, in legumes, leaves have been shown to turn yellow (Bergmann, 1992; Gupta, 1997b). The greatest concern associated with high plant molybdenum levels is with crops used for grazing or silage production. Ruminant animals, which consume plant tissues high in molybdenum content,

can suffer from molybdenosis, a disorder that induces copper deficiencies (Scott, 1972). Fortunately this disorder can be controlled by directly maintaining adequate Mo/Cu ratios in the rumen diet or by altering the availability of molybdenum to plants by changes in soil availability (pH adjustment).

VISUAL SYMPTOMS OF MOLYBDENUM DEFICIENCY IN PLANTS

Molybdenum deficiencies have been documented in many plant species where phenotypes range in severity and appearance (Hewitt and Bolle-Jones, 1952a). In the Brassicaceae family, molybdenum deficiencies are strikingly pronounced and reproducible amongst many of its members. Visual effects in young plants include mottling, leaf cupping, grey tinting, and flaccid leaves which are often found on seedlings that remain dwarfed until dying (Hewitt and Bolle-Jones, 1952a). In older plants, where deficiencies have been rescued or when deficiency levels are modest, the symptoms appear in younger leaf tissues with the characteristic loss of proper lamina development (whip-tail), leathery leaves and meristem necrosis (Hewitt and Bolle-Jones, 1952b). Investigation into the ultrastructure of leaves exhibiting whip-tail indicated that chloroplasts near the lesions became bulbous and enlarged with spherical protrusions bounded by chloroplast and tonoplast membranes (Fido *et al.*, 1977).

Deficiency symptoms can also be masked by the indirect effect of molybdenum on nitrogen assimilatory enzymes (i.e. NR). Many horticultural, cereal and legume crops growing at deficient molybdenum levels in the presence of nitrate fertilizers will develop pale green leaves and, at times, necrotic regions at leaf margins with accompanied decreases in overall plant growth (Hewitt and Bolle-Jones, 1952a; Agarwala *et al.*, 1978; Chatterjee *et al.*, 1985; Chatterjee and Nautiyal, 2001). Molybdenum-deficient oat and wheat develop necrotic regions on leaf blades, and seeds are poorly developed and shrivelled (Anderson, 1956; Chatterjee and Nautiyal, 2001). In maize, molybdenum deficiency shortens internodes, decreases leaf areas and causes the development of chlorotic leaves (Agarwala *et al.*, 1978). In reproductive tissues in maize, molybdenum deficiency can alter the phenotypes in developing flowers, including delayed emergence of tassels, small anthers, poorly developed stamens, and reduced pollen grain development (Agarwala *et al.*, 1979). Pollen that is released from the anthers has been shown to be shrivelled and have poor germination rates (Agarwala *et al.*, 1978, 1979). In grapevines, molybdenum deficiency has recently been suggested as the primary cause of a bunch development disorder called Millerandage or 'hen and chicken' (Williams *et al.*, 2004). Millerandage (Fig. 1) is characterized by grapevine bunches that develop unevenly, where fully matured berries are present in a bunch alongside a large number of fertilized underdeveloped berries as well as unfertilized swollen green ovaries (Mullins *et al.*, 2000). Millerandage has been reported primarily in *Vitis vinifera* 'Merlot' but unpublished anecdotal reports have suggested

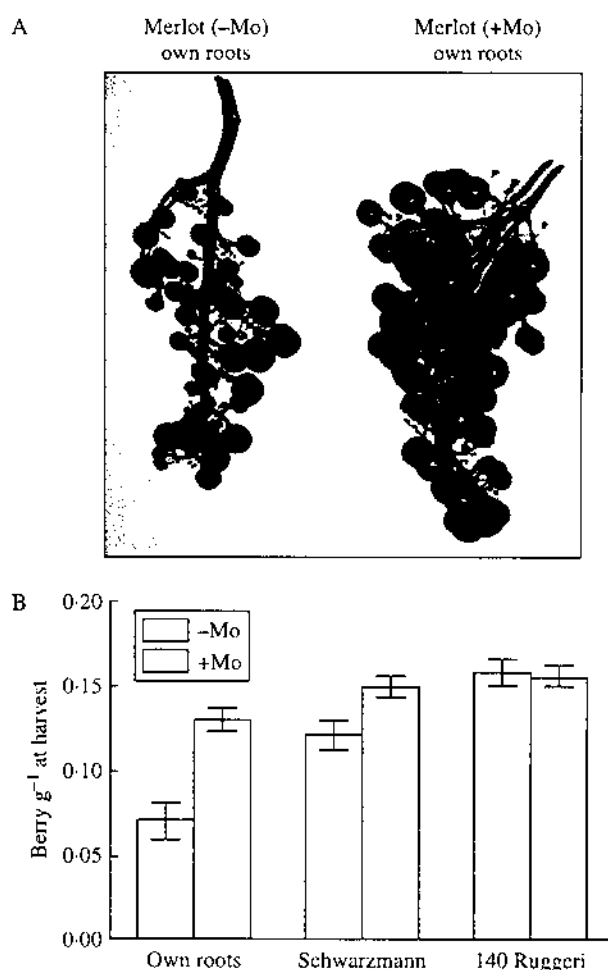


FIG. 1. Incidence of Millerandage in *V. vinifera* 'Merlot' and recovery from after foliar molybdate treatment and/or grafting onto rootstocks. Millerandage is identified by altered bunch development where berries within bunches at final harvest are at different developmental stages including fertilized matured ripened berries, fertilized but poorly developed berries and unfertilized enlarged green ovaries. (A) Merlot bunches at harvest displaying Millerandage in the (-Mo) treatment versus normal bunches in the (+Mo) treatment. (B) Final berry yields in response to foliar molybdenum treatments pre-flowering. Merlot vines were grown on own roots or grafted onto the rootstocks Schwarzmann and 140 Ruggeri.

the problem also occurs in Cabernet Sauvignon and Chardonnay cultivars (P. Dry, The University of Adelaide, Adelaide Australia, pers. comm.). In Merlot vines displaying Millerandage, other characteristic molybdenum-deficiency responses also appear including shortened zigzag-shaped internodes, pale-green leaves, increased cupped and flaccid leaves, and marginal leaf necrosis (K. Gridley, University of Adelaide, unpubl. res.).

BIOCHEMICAL RESPONSE IN PLANTS TO MOLYBDENUM DEFICIENCIES

Molybdenum deficiency affects plant metabolism at many different levels. The responses are strongly linked to the requirement of molybdenum for the various types of molybdoenzymes present in plants. Plant molybdoenzymes can be

broken down to those involved in nitrogen reduction and assimilation [i.e. nitrate reduction (nitrate reductase; NR), nitrogen fixation (nitrogenase), purine catabolism (xanthine dehydrogenase/oxidase; XDH), abscisic acid (ABA) and indole-3 acetic acid (IAA) synthesis (aldehyde oxidase; AO)] and sulfur metabolism (sulfite oxidase; SO). The molybdoenzymes can be classified even further based on their interactions with Moco. NR and SO contain a dioxo-Mo co-factor, which activates the protein when it is inserted into the protein complex (Mendel and Haensch, 2002). XDH and AO have a monoxo-Mo co-factor which requires Moco insertion and then subsequent sulfuration of the Mo centre to activate the Moco/protein complex (Mendel and Haensch, 2002). Since molybdenum is involved in a number of different enzymatic processes, a defined plant response to molybdenum deficiency can be complex and thus difficult to assign causally to specific enzyme systems. This is particularly evident in molybdoenzymes involved in nitrogen metabolism where overall reductions in plant growth and health can alter plant development, susceptibility to pest damage, and fruit or grain development (Graham and Stangoulis, 2005).

Molybdenum deficiency and NR activity

Molybdenum deficiencies are primarily associated with poor nitrogen health particularly when nitrate is the predominant nitrogen form available for plant growth. Inability to synthesize Moco will reduce the activity of the critical nitrogen-reducing and assimilatory enzymes including NR and XDH (Agarwala and Hewitt, 1954; Spencer and Wood, 1954; Afridi and Hewitt, 1964, 1965; Randall, 1969; Jones *et al.*, 1976; Agarwala *et al.*, 1978). In most plant species, the loss of NR activity is associated with increased tissue nitrate concentrations and a decrease in plant growth and yields (Spencer and Wood, 1954; Agarwala *et al.*, 1978; Chatterjee *et al.*, 1985; Unkles *et al.*, 2004). Accordingly, in spinach plants grown under molybdenum-deficiency conditions, leaf NR activity was found to be reduced and overall final plant yields lower than control plants grown on adequate levels of molybdenum (Witt and Jungk, 1977). In wheat, molybdenum starvation was also shown to reduce maximum NR activities (lower potential V_{MAX}) irrespective of the regulatory control of NR by light and dark periods (Yaneva *et al.*, 2000). Re-supplying molybdenum as a foliar spray or in supplemented nutrient solution in most instances will readily recover NR activity (Spencer and Wood, 1954; Afridi and Hewitt, 1964; Jones *et al.*, 1976; Witt and Jungk, 1977). In the wine grapevine *Vitis vinifera* 'Merlot', poor growth during establishment and variable yields in mature plants grown in many South Australian vineyards is positively correlated with reduced petiolar molybdenum levels (Williams *et al.*, 2004). Preliminary experiments by Ngair Brady and colleagues (unpubl. res.) have demonstrated NR activity is significantly depressed in both Merlot shoots and roots even when grown with nutrient solution containing nitrate-N and adequate amounts of sodium molybdate (Fig. 2). It is believed that this is not the result of a mutation in the NR apoenzyme or in Moco biosynthesis as Merlot is capable of nitrate reduction when molybdenum is applied as

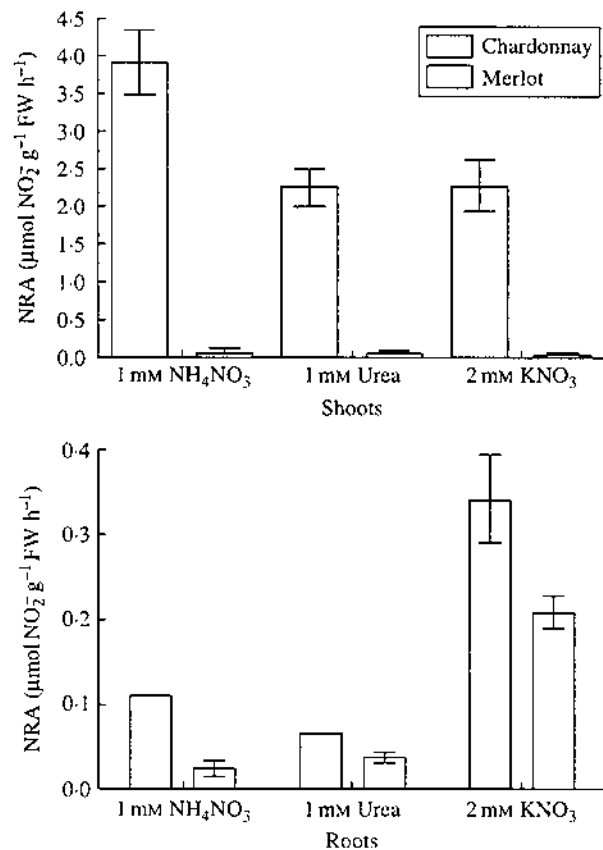


FIG. 2. *In vitro* nitrate reductase activity in grapevine leaves and roots. *In vivo* nitrate reductase activity (NRA) was measured in leaf discs and young root sections from Merlot and Chardonnay grapevines. The grapevines were grown in sand in pots and supplied modified Hoagland nutrient solution containing different nitrogen formulations. Data represents the mean \pm s.e. ($n = 5$).

a foliar treatment. Painting molybdate directly onto a leaf will induce NR activity in the treated leaf and in untreated leaves elsewhere in the canopy (Fig. 3). From this preliminary study, it would indicate the phenotype present in Merlot is not related to the synthesis and activity of Moco (Mendel and Haensch, 2002) or the NR apoenzyme but most likely associated with a disruption in the mechanism controlling molybdenum uptake and/or internal redistribution in the xylem and/or phloem. Interestingly, NR activity can also be rescued and plant growth returned to a 'normal' state by grafting Merlot onto hybrid North American rootstocks (Fig. 1). From this phenotype it would suggest the mutation in Merlot rests with its inability to readily accumulate molybdate from the soil solution.

Molybdenum and its regulation of symbiotic nitrogen fixation

The other notable influence of molybdenum on plant nitrogen metabolism is in nitrogen-fixing legumes. The symbiotic bacterial enzyme nitrogenase is comprised of two subunits one of which is the MoFe protein directly involved in the reduction of N₂ to NH₃. Supply of molybdenum and

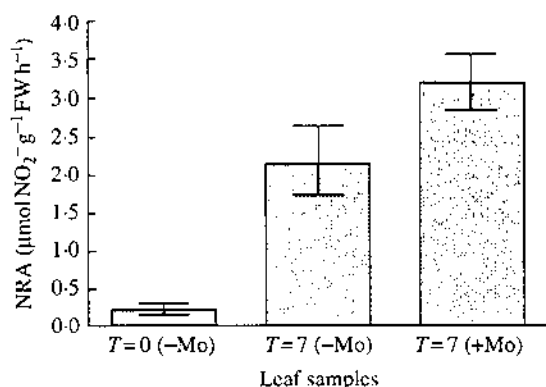


FIG. 3. Induction of nitrate reductase activity in Merlot leaves by foliar application of molybdate. The level of NRA in leaves of Merlot before and after application of molybdate to a single leaf. The leaves removed at $T = 0$ had no Mo applied. The leaves at $T = 7$ d either had molybdate (1.54 mM sodium molybdate) directly applied to them (+Mo) or were from the opposite side of the vine with no applied molybdate (-Mo). Data represents mean \pm standard error ($n = 5$).

Fe to bacteroids is therefore an important process and most likely a key regulatory component in the maintenance of nitrogen fixation in legumes. Molybdate supplied by the plant must traverse nodule cellular membranes (plasma membrane and the peribacteroid membrane) as well as the bacteroid outer and inner membranes to reach the bacterial nitrogenase complex. A modABC transport system is most likely involved in bacteroid molybdate uptake; however, currently there is no information on the mechanism controlling molybdate transport into nodules and across the peribacteroid membrane. What is known, with respect to molybdenum and legume nitrogen fixation, is that molybdenum availability is closely correlated with nodule development (Anderson and Spencer, 1950; Anderson, 1956). In the absence of exogenous nitrogen (conditions which promote nitrogen fixation), molybdenum deficiency has been shown to significantly increase the number and size of clover nodules relative to control plants receiving molybdenum (Anderson and Spencer, 1950). Foliage of molybdenum-deficient clover also shows characteristic nitrogen-deficiency symptoms with pale green to yellow leaves and reduced biomass production (Anderson and Spencer, 1950; Hewitt and Bolle-Jones, 1952a). Legumes also appear to maintain molybdenum concentrations in nodules as the partitioning of molybdenum in common bean and soybean favours both nodules and developing seeds relative to other tissues (Gurley and Giddens, 1969; Franco and Munns, 1981; Ishizuka, 1982; Brodrick and Giller, 1991b). Foliar-applied molybdenum to common beans resulted in an 81% increase in nodule molybdenum levels relative to the 56% increase observed in the shoots (Brodrick and Giller, 1991b). It would thus appear that nodules are strong sinks for molybdenum, whether this is a direct consequence of an active nitrogenase enzyme is still to be determined. Experiments with soybean and common bean have shown that molybdenum fertilization can enhance the nitrogen-fixing symbiosis through increased nitrogenase activity rates and larger nodules (Parker and Harris, 1977; Adams, 1997; Vieira *et al.*, 1998). However, subsequent increases in

nitrogenase activity were not shown to occur as external molybdenum supply increased (Brodrick and Giller, 1991b). It would appear that nodules accumulate significantly more molybdenum than what is required in order to support bacterial nitrogenase activity and symbiotic nitrogen fixation.

The mobilization and export of fixed nitrogen out of the nodule requires the activity of the molybdoenzyme XDH. Depending on the legume species, fixed nitrogen is exported as either amides (glutamine and asparagine) or ureides (allantoin and allantoic acid), which are initially derived from the oxidative breakdown of purines. During this process, XDH catalyses the conversion of hypoxanthine to xanthine and xanthine to uric acid (Mendel and Haensch, 2002). The direct effects of molybdenum deficiencies on XDH activity in legume nodules is unknown; however, deficiencies would impact upon the ability of the plant to efficiently export reduced nitrogen from the nodule. XDH activity is also suggested to generate superoxide radicals (superoxide anions and/or hydrogen peroxide) in response to both biotic and abiotic stresses (Pastori and Rio, 1997; Hesberg *et al.*, 2004). XDH activity has been shown to increase when phytopathogenic fungi infect both cereals and legumes. Whether this response is aimed at oxidative defence mechanisms it still unknown; however, in pea, XDH activity is strongly correlated with the activity of superoxide dismutase (Pastori and Rio, 1997). How this and other plant defence-related responses are linked to plant molybdenum nutrition is poorly understood. There is little direct evidence to conclude that improvements in plant molybdenum levels results in a decrease of disease, with the exception of small number of studies which indicate molybdenum fertilization can improve resistance to verticillium wilt in tomato (for a review, see Graham and Stangoulis, 2005). However, as discussed by Graham and Stangoulis (2005), this response may just be through improved plant health and not a direct effect on molybdenum in the defence response.

Molybdoenzymes not associated with nitrogen metabolism

Molybdoenzymes are also involved in the synthesis of the phytohormones ABA and indole-3-acetic acid (IAA). The Moco-dependent AO, catalyses the final steps in the conversion of indole-3-acetaldehyde to IAA, and the oxidation of abscisic aldehyde to ABA. Mutations in either the AO apoprotein or enzymes involved in Moco biosynthesis and Moco activation (sulfuration) will disrupt ABA synthesis (Marin and Marion-Poll, 1997; Schwartz *et al.*, 1997; Sagi *et al.*, 2002; Hesberg *et al.*, 2004). Low ABA levels result in plants with a wilted appearance through excessive transpiration and loss of stomatal control, altered seed dormancy, and impaired defence responses (Mendel and Haensch, 2002). It has been shown recently the ABA-deficient mutants *flacca* and *aba3*, which both show wilted phenotypes, are disrupted in the Moco sulfuration step, which is required to activate the inserted Moco in AO (Bittner *et al.*, 2001; Sagi *et al.*, 2002). One of the distinct phenotypes in molybdenum-deficient Merlot is flaccid and cupped leaves similar to that observed in *flacca* and *aba3* (Robinson and Burne,

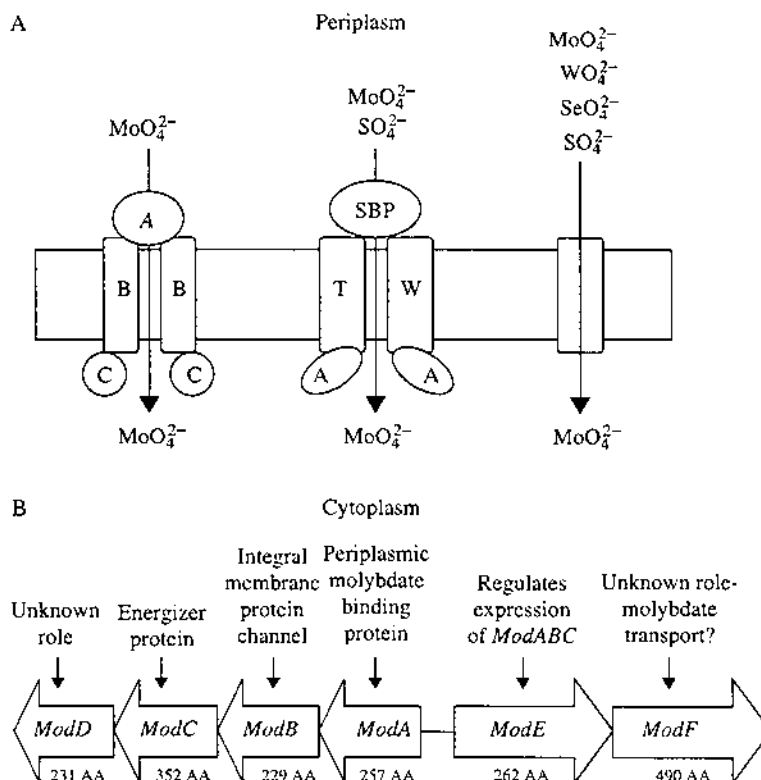


FIG. 4. Molybdate transport systems in *E. coli*. (A) Molybdate transport in *E. coli* is considered to involve three systems. The modABC protein complex, a sulfate transport complex similar to CYS UWA and an unidentified nonspecific anion channel. (B) Diagram of the *mod* operon present in *E. coli*.

2000). More research is required to ascertain whether AO activity in Merlot is affected by molybdenum deficiencies and the wilty phenotype associated with AO activity and sufficient ABA production.

MOLYBDENUM TRANSPORT

The mechanism(s) controlling molybdenum transport in plants and all higher-order organisms are still unknown. To date, molybdenum transport systems have only been identified and characterized in prokaryotes (bacteria) and some lower order eukaryotes (Self *et al.*, 2001; Mendel and Haensch, 2002). In bacteria, the molybdenum transport system consists of multiple transport systems that ensure effective transfer of molybdenum into the cell. From studies in *Escherichia coli*, three systems are known to exist (Fig. 4), a primary high-affinity ABC-type transport system (ModABC) (Maupin-Furlow *et al.*, 1995) and two secondary systems including an ABC-type sulfate transporter and a non-specific anion transporter (Maupin-Furlow *et al.*, 1995; Self *et al.*, 2001). Each of these proteins is encoded from genes found on a single operon (Maupin-Furlow *et al.*, 1995; Walkenhorst *et al.*, 1995). Downstream of the *ModABC* operon are two individual operons containing the regulatory genes *ModE* and *ModF* (Grunden *et al.*, 1996). In many other bacteria and Archaea, *Mod* operons with similar or altered composition to that of *E. coli* have been identified through genome sequence homology

(Grunden and Shanmugam, 1997; Self *et al.*, 2001). However, only a few have been genetically and functionally characterized including *Mod* genes present in *Azotobacter vinelandii*, *Staphylococcus carnosus* and *Rhodobacter capsulatus* (Luque *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1993; Neubauer *et al.*, 1999).

ModABC consists of three proteins including a periplasmic molybdate-binding protein (ModA), an integral membrane channel protein (ModB) and an energizing protein (ModC). Molybdate binds to ModA (K_D *E. coli* approx. $20 \mu\text{M}$) inducing a conformational change in the protein structure (Imperial *et al.*, 1998). In *E. coli*, ModA will also bind tungstate but has a low affinity for similar-sized anions including sulfate (Rech *et al.*, 1996; Imperial *et al.*, 1998). ModB is an integral membrane protein containing five transmembrane spanning regions and a characteristic ABC signature motif (Self *et al.*, 2001). The third component ModC, contains two Walker motifs (A and B) and an ABC motif similar to those found on ABC-type ATPases (Self *et al.*, 2001). ModC is believed to be involved in the energization of molybdate transport. The ModABC complex is assumed to function as a molybdate transport system through an interaction between the channel protein ModB and the initial interactions between ModA and ModC through the conserved sequence motifs present in ModB (Fig. 4). In *E. coli* and a small number of other prokaryotes, ModABC is regulated by the activity of ModE which is a DNA transcriptional activator that is significantly more active when bound to molybdate

(Grunden *et al.*, 1999; Self *et al.*, 2001). The bound ModE–Mo complex represses the *ModABC* operon by binding to the ModA operator DNA and turning off molybdate transport (Grunden *et al.*, 1999). *ModE* requires molybdenum to initiate the necessary conformational changes to become active, while other anions including tungstate or sulfate cannot effectively replace molybdenum binding (Grunden *et al.*, 1999). *ModF* encodes a protein with an ABC signature motif similar to those found in the ABC–ATPase, ModC; however, its function is currently unknown (Self *et al.*, 2001).

In *E. coli*, the K_M for molybdate is approx. 50 nM at pH 7.0 (Corcuera *et al.*, 1993). The rate of molybdate uptake is influenced by the presence of molybdenum in the external medium where low concentrations (10 nM) enhance uptake and higher concentrations (approx. 1 μ M) eliminate transport (Corcuera *et al.*, 1993). In *E. coli* mutants lacking modABC activity, sulfate transporters can transport molybdate albeit at a lower affinity (K_M approx. 100 μ M). In double mutants lacking both the modABC and sulfate transport systems, low affinity selenite-sensitive anion transporters can allow uptake of molybdate; however, the K_M for this transport phenomenon is not known (Lee *et al.*, 1990). As a bacteroid in soybean root nodules, varied strains of *Bradyrhizobium japonicum* display different affinities for molybdate ranging between 45 nM and 0.36 μ M (Lennox and Maier, 1987). The nitrogen fixing *Anabaena variabilis* accumulates molybdate at very low external concentrations in molybdenum-starved cells with an estimated K_M for molybdate of 0.33 nM (Thiel *et al.*, 2002). The *A. variabilis* molybdate transport system can transport tungstate but not vanadate or sulfate (Thiel *et al.*, 2002). In an *A. variabilis* modBC mutant, molybdate uptake is not detectable; however, after successive generations in sulfate-depleted medium, molybdate uptake can be restored and then later eliminated with sulfate re-supply (Zahalak *et al.*, 2004). It would appear a second molybdate system such as a sulfate transporter may also participate in molybdate uptake in *A. variabilis* (Zahalak *et al.*, 2004).

Molybdate transport into plants

Since there is no known molecular mechanism controlling molybdate transport in plants, and higher organisms for that matter, we are left to speculate on the types of systems based on the information we have from prokaryote and whole-plant molybdenum nutrition studies. Unfortunately, linking prokaryotic molybdate transport systems to the processes, which occur in eukaryotes, is not direct as there is limited sequence homology to modABC, modE and ModF in either arabidopsis or rice genomes or any other large plant expressed sequence tagged collections or partially sequenced genomes. However, there are similarities in physiological responses to molybdenum between prokaryotic and eukaryotic systems, namely the close interaction with sulfate transport. Sulfate is a similar-sized anion to molybdate, and evidence from prokaryotic studies suggests that sulfate transport systems and selenate-sensitive anion channels are capable of molybdate transport (Self *et al.*, 2001). Stout and Meagher (1948) first demonstrated that,

in tomato, molybdate (^{99}Mo) uptake in simple single salt buffer was significantly enhanced in the presence of phosphate and inhibited with sulfate. In a more representative nutrient solution where both phosphate and sulfate were present, sulfate was still found to be an effective competitor to molybdate uptake (Stout *et al.*, 1951). In contrast, ^{99}Mo uptake into tomato increased when phosphorus was withheld from the nutrient solution which could be quickly reversed with phosphorus re-supply (Heuwinkel *et al.*, 1992). From this study, it would appear molybdate is bound and transported across the plasma membrane using a phosphorus transport system. However, firstly, the competition studies demonstrated that when phosphorus levels were adequate, low concentrations of molybdate failed to effectively compete with phosphorus and, secondly, accumulated molybdate did not quickly move from roots to shoots and was instead readily available for exchange with non-labelled molybdate (Heuwinkel *et al.*, 1992). These data suggest the phosphorus transport system may effectively bind and accumulate molybdate but would appear to have limited impact on molybdate transport under good growing conditions where the soil has adequate amounts of available phosphorus. It is also interesting to note that sulfate accumulation was significantly repressed during the phosphorus starvation period (Heuwinkel *et al.*, 1992), a result which strengthens the case for the involvement of sulfate transport systems in molybdate transport. Since the initial observation by Stout and Meagher (1948), sulfate has since been shown to be an effective regulator of molybdenum uptake in many plants under a wide range of growing conditions (see review by Macleod *et al.*, 1997). The similar size of the two anions and the relative concentrations in the soil solution most likely contribute to the competition observed with sulfate. However, the effect of sulfate on molybdate uptake is not solely at the root/soil interface. Soybean plants showed decreased molybdenum levels in aerial parts of the plant as the sulfate supply increased (Sing and Kumar, 1979) even if molybdenum was applied as a foliar spray (Kannan and Ramani, 1978).

The influence of other ions on molybdate uptake is poorly understood. In excised rice roots, the uptake of molybdate (0.01 mM) was significantly enhanced in the presence of 0.1 mM FeSO_4 but not in FeEDDHA (Patel *et al.*, 1988). Interestingly, in free-living cowpea *Rhizobium* grown in iron-deplete conditions, the addition of high concentrations of molybdenum (1 mM) results in a release of a siderophore which appears to bind molybdenum and influences its uptake into the cell (Kannan and Ramani, 1978). Molybdate is highly mobile once in the plant where foliar absorption and translocation occur quickly. Williams (2004) showed that foliar-applied molybdate was rapidly distributed throughout the plant, including translocation towards the stem and roots within 24 h. Work completed by Ngaire Brady and colleagues (unpubl. res.) showed that foliar application of molybdate onto *V. vinifera* 'Merlot' restored NR activity in non-treated leaves elsewhere in the plant canopy (Fig. 3). Indeed, Brodrick and Giller (1991a), have shown good plant growth responses from foliar molybdenum application in the field. The mobility of molybdenum in plant tissues does appear to be genetically

controlled. Brodrick and Giller (1991a) observed different molybdate partitioning patterns between two *Phaseolus vulgaris* cultivars. One variety had a distinct advantage in distributing molybdate to developing seeds, nodules, roots and pod walls (Smith *et al.*, 1995).

PUTATIVE PLANT MOLYBDATE TRANSPORTERS

The close interaction between molybdate and sulfate transport in many biological systems suggests a similar transport system is likely to be involved in the movement of molybdenum into and within plants. The first plant sulfate transporters (*SHST1*, *SHST2*, *SHST3*) were identified from sulfur-starved roots of the tropical forage legume *Stylosanthes hamata* (Smith *et al.*, 1995). The *SHST(1-3)* clones were identified by their ability to functionally complement a yeast sulfate transport mutant *YSD1* (Takahashi *et al.*, 1996, 1999, 2000; F. W. Smith *et al.*, 1997; Bolchi *et al.*, 1999; Vidmar *et al.*, 1999; Hawkesford, 2003). Since then a number of sulfate transport systems has been genetically identified and characterized in plants including genes from arabidopsis, barley, maize, potato, soybean and wheat (Hawkesford, 2003). In arabidopsis, there are 12 identified sulfate transporters with significant sequence homology and two more which are more distantly related (Hawkesford, 2003). This rich gene collection in many plant species has enabled distinct groups to be identified based on their sequences, cellular localization and response to sulfate (Takahashi *et al.*, 1999). Group I sulfate transporters are high-affinity systems (K_M 1.5–10 μ M) primarily expressed in roots, and increase or decrease in expression in response to sulfur starvation or supply, respectively. Group II sulfate transporters are considered low affinity systems (0.1–1.2 mM) based on their functional properties when expressed in yeast cells. Group II transporters also respond to sulfur starvation through increased expression levels. Group III transporters are mainly expressed in leaf tissues and account for five of the 14 sulfate-like transporters identified in arabidopsis. For the remaining two groups there is less information on their functionality in plants. Initial reports indicated a member of group IV (*AtSultr4;1*) may be targeted to chloroplasts (Shibagaki *et al.*, 2002), while group V members are distantly related to members of group I–IV and no functional experimentation has been completed on them. The role of the sulfate transporter family in plants is slowly becoming clearer. Recently, the arabidopsis *AtSultr1;2*, which is a member of the group I sulfate transporters, was shown to be involved in sulfate uptake *in planta* where a T-DNA lesion in the *AtSultr1;2* locus allowed plants to grow on toxic concentrations of selenate and reduced its ability to accumulate sulphate into root tissues. There is an obvious requirement for more research into identifying the *in planta* function of the remaining sulfate transporters in plants before any of them can be nominated as putative molybdate permeases. However, one avenue of research that could be explored further is the role of these transport proteins when expressed in heterologous expression systems such as yeast cells. Although significant headway has been made in identifying genes encoding sulfate

transport proteins very little information exists on the functional properties of most of these transporters in relation to anion selectivity, pH regulation and kinetic activities. Early studies in yeast demonstrated selenate and chromate as effective inhibitors of sulfate uptake (Breton and Surdin-Kerjan, 1977). Thus, selenate has been an effective screening tool to identify mutants that have disruptions in sulfate transport (Smith *et al.*, 1995; Cherest *et al.*, 1997). Using a selenate-resistant mutant *YSD1*, the selectivity of this mutant for sulfate transport and other anions such as molybdate is being explored. By removing molybdate from the media by activated charcoal scrubbing it has been possible to demonstrate that molybdate uptake at low external concentrations is also impaired in the yeast mutant (K. Gridley, unpubl. res.). This low molybdate media screen has been incorporated into ongoing experiments where selected plant sulfate transporters are being expressed in yeast and ranked on their ability to rescue growth on reduced molybdenum concentrations.

CONCLUDING REMARKS

Molybdenum nutrition is an essential component to healthy plant growth. Molybdate which is the predominant form available to plants is required at very low levels where it is known to participate in various redox reactions in plants as part of the pterin complex Moco. Moco is particularly involved in enzymes, which participate directly or indirectly with nitrogen metabolism. However, Moco is also uniquely involved in ABA synthesis where it has a significant effect on ABA levels in plant cells and consequently a role in water relations and transpiration rates through stomatal control and in stress related responses. There is significant scope in exploring practices, which optimize molybdenum fertilization in crops where nitrate is the predominant available N source or in nitrogen fixing legumes. There is also a large gap in the understanding of how molybdate enters plant cells and is redistributed between tissues of the plant. For instance the mechanism controlling molybdenum transport to nitrogen fixing bacteroids may be a unique control mechanism by which the plant can regulate the symbiosis indirectly through molybdenum availability to support nitrogenase activity. From our recent work with the grapevine cv. Merlot, we are starting to appreciate the influence of molybdenum on plant development and better understand mechanisms, which may be responsible for molybdenum uptake from the soil. It is ironic that it took a new industry to be expanded in South Australia where molybdenum first made its mark as an essential plant element to again reinforce the importance of molybdenum in plant development. Much more research is required to ascertain the simple processes involved in how plants gain access to molybdenum and how the element may be used in the future to expand growing areas where soil molybdate profiles limit plant growth.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants provided by the Cooperative Research Centre for Viticulture and the McLaren Vale Vine Improvement Society.

LITERATURE CITED

- Adams JF. 1997. Yield response to molybdenum by field and horticultural crops. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Afridi MMRK, Hewitt EJ. 1964. The inducible formation and stability of nitrate reductase in higher plants. I. Effects of nitrate and molybdenum on enzyme activity in cauliflower (*Brassica oleracea* var. Botrytis). *Journal of Experimental Botany* 15: 251–271.
- Afridi MMRK, Hewitt EJ. 1965. The inducible formation and stability of nitrate reductase in higher plants. II. Effects of environmental factors, antimetabolites, and amino-acids on induction. *Journal of Experimental Botany* 16: 628–645.
- Agarwala SC, Hewitt EJ. 1954. Molybdenum as a plant nutrient. IV. The interrelationships of molybdenum and nitrate supply in chlorophyll and ascorbic acid fractions in cauliflower plants grown in sand culture. *Journal of Horticultural Science* 30: 163–180.
- Agarwala SC, Sharma CP, Farooq S, Chatterjee C. 1978. Effect of molybdenum deficiency on the growth and metabolism of corn plants raised in sand culture. *Canadian Journal of Botany* 56: 1905–1909.
- Agarwala SC, Chatterjee C, Sharma PN, Sharma CP, Nautiyal N. 1979. Pollen development in maize plants subjected to molybdenum deficiency. *Canadian Journal of Botany* 57: 1946–1950.
- Anderson AJ. 1942. Molybdenum deficiency on a South Australian ironstone soil. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* 8: 73–75.
- Anderson AJ. 1946. Molybdenum in relation to pasture improvement in South Australia. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research* 19: 1–15.
- Anderson AJ. 1956. Molybdenum deficiencies in legumes in Australia. *Soil Science* 81: 173–192.
- Anderson AJ, Spencer D. 1950. Molybdenum in nitrogen metabolism of legumes and non-legumes. *Australian Journal of Scientific Research* 3: 414–430.
- Arnon DI, Stout PR. 1939. Molybdenum as an essential element for higher plants. *Plant Physiology* 14: 599–602.
- Bergmann W. 1992. *Nutritional disorders of plants. Visual and analytical diagnosis*. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Bittner F, Oreb M, Mendel RR. 2001. ABA3 is a molybdenum cofactor sulfurylase required for activation of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry* 276: 40381–40384.
- Bloomfield C, Kelso WI. 1973. The mobilisation and fixation of molybdenum, vanadium, and uranium by decomposing plant matter. *Journal of Soil Science* 24: 368–379.
- Bolchi A, Petrucco S, Tenca PL, Foroni C, Ottonello S. 1999. Coordinate modulation of maize sulfate permease and ATP sulfurylase mRNAs in response to variations in sulfur nutritional status: stereospecific down-regulation by l-cysteine. *Plant Molecular Biology* 39: 527–537.
- Breton A, Surdin-Kerjan Y. 1977. Sulfate uptake in *Saccharomyces cerevisiae*: biochemical and genetic study. *Journal of Bacteriology* 132: 224–232.
- Brodrick SJ, Giller KE. 1991a. Genotypic difference in molybdenum accumulation affects N₂-fixation in tropical *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany* 42: 1339–1343.
- Brodrick SJ, Giller KE. 1991b. Root nodules of *Phaseolus*: efficient scavengers of molybdenum for N₂-fixation. *Journal of Experimental Botany* 42: 679–686.
- Chatterjee C, Nautiyal N. 2001. Molybdenum stress affects viability and vigour of wheat seeds. *Journal of Plant Nutrition* 24: 1377–1386.
- Chatterjee C, Nautiyal N, Agarwala SC. 1985. Metabolic changes in mustard plants associated with molybdenum deficiency. *New Phytologist* 100: 511–518.
- Cherest H, Davidian J, Thomas D, Benes V, Ansoerge W, Surdin-Kerjan Y. 1997. Molecular characterisation of two high affinity sulfate transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 145: 627–635.
- Corcuera GL, Bastidas MA, Dubourdieu M. 1993. Molybdenum uptake in *Escherichia coli* K12. *Journal of General Microbiology* 139: 1869–1875.
- Davies EB. 1945. A case of molybdenum deficiency in New Zealand. *Nature* 156: 392.
- Fido RJ, Gundry CS, Hewitt EJ, Notton BA. 1977. Ultrastructural features of molybdenum deficiency and whiptail of cauliflower leaves: effects of nitrogen source and tungsten substitution for molybdenum. *Australian Journal of Plant Physiology* 4: 675–689.
- Fortescue JAC. 1992. Landscape geochemistry: retrospect and prospect. *Applied Geochemistry* 7: 1–53.
- Franco AA, Munns DN. 1981. Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. *Soil Science Society of America Journal* 45: 1144–1148.
- Graham RD, Stangoulis JRC. 2005. Molybdenum and disease. In: Dantoff L, Elmer W, Huber D, eds. *Mineral nutrition and plant diseases*. St Paul, MN: APS Press.
- Grunden AM, Shanmugam KT. 1997. Molybdate transport and regulation in bacteria. *Archives of Microbiology* 168: 345–354.
- Grunden AM, Ray RM, Rosentel JK, Healy FG, Shanmugam KT. 1996. Repression of the *Escherichia coli* modABCD (molybdate transport) operon by ModE. *Journal of Bacteriology* 178: 735–744.
- Grunden AM, Self WT, Villain M, Blalock JE, Shanmugam KT. 1999. An analysis of the binding repressor protein ModE to modABCD (molybdate transport) operator/promoter DNA of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* 274: 24308–24315.
- Gupta UC. 1997a. Soil and plant factors affecting molybdenum uptake by plants. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gupta UC. 1997b. Symptoms of molybdenum deficiency and toxicity in crops. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gurley WH, Giddens J. 1969. Factors affecting uptake, yield response, and carryover of molybdenum in soybean seed. *Agronomy Journal* 61: 7–9.
- Hawkesford MJ. 2003. Transporter gene families in plants: the sulphate transporter gene family redundancy or specialization? *Physiologia Plantarum* 117: 155–163.
- Hesberg C, Haensch R, Mendel RR, Bittner F. 2004. Tandem orientation of duplicated xanthine dehydrogenase genes from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry* 279: 13547–13554.
- Heuwinkel H, Kirkby EA, Le Bot J, Marschner H. 1992. Phosphorus deficiency enhances molybdenum uptake by tomato plants. *Journal of Plant Nutrition* 15: 549–568.
- Hewitt EJ, Bolle-Jones EW. 1952a. Molybdenum as a plant nutrient. II. The effects of molybdenum deficiency on some horticultural and agricultural crop plants in sand culture. *Journal of Horticultural Science* 27: 257–265.
- Hewitt EJ, Bolle-Jones EW. 1952b. Molybdenum as a plant nutrient. I. The influence of molybdenum on the growth of some *Brassica* crops in sand culture. *Journal of Horticultural Science* 27: 245–256.
- Imperial J, Hadi M, Amy NK. 1998. Molybdate binding by ModA, the periplasmic component of the *Escherichia coli* mod molybdate transport system. *Biochimica et Biophysica Acta* 1370: 337–346.
- Ishizuka J. 1982. Characteristics of molybdenum absorption and translocation in soybean plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 28: 63–71.
- Jenne EA. 1977. Trace element sorption by sediments and soils—sites and processes. In: Gould RF, ed. *Molybdenum in the environment*. New York, NY: Marcel Dekker.
- Jones GB, Belling GB. 1967. The movement of copper, molybdenum, and selenium in soils as indicated by radioactive isotopes. *Australian Journal of Agricultural Research* 18: 733–740.
- Jones RW, Abbott AJ, Hewitt EJ, James DM, Best GR. 1976. Nitrate reductase activity and growth in Paul's scarlet rose suspension cultures in relation to nitrogen source and molybdenum. *Planta* 133: 27–34.
- Kannan S, Ramani S. 1978. Studies on molybdenum absorption and transport in bean and rice. *Plant Physiology* 62: 179–181.
- Karimian N, Cox FR. 1978. Adsorption and extraction of molybdenum in relation to some chemical properties of soils. *Soil Science Society of America Journal* 42: 757–761.
- Kubota J, Lemon ER, Allaway WH. 1963. The effect of soil moisture content upon the uptake of molybdenum, copper, and cobalt by alsike clover. *Soil Science Society of America Proceedings* 27: 679–683.
- Lee JH, Wendi JC, Shanmugam KT. 1990. Identification of a new gene, molR, essential for utilisation of molybdate by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 172: 2079–2087.
- Lennox G, Maier RJ. 1987. Variability in molybdenum uptake activity in *Bradyrhizobium japonicum* strains. *Journal of Bacteriology* 169: 2555–2560.

- Lindsay WL. 1979. *Chemical equilibria in soils*. New York: John Wiley & Sons.
- Luque F, Mitchenall LA, Chapman M, Christine R, Pau RN. 1993. Characterisation of genes involved in molybdenum transport in *Azotobacter vinelandii*. *Molecular Microbiology* 7: 447–459.
- Macleod JA, Gupta UC, Stanfield B. 1997. Molybdenum and sulfur relationships in plants. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Marin A, Marion-Poll A. 1997. Tomato flacca mutant is impaired in ABA aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase activities. *Plant Physiology and Biochemistry* 35: 369–372.
- Maupin-Furlow JA, Rosentel JK, Lee JH, Deppenmeier U, Gunsalus RP, Shanmugam KT. 1995. Genetic analysis of the modABC (molybdate transport) operon of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 177: 4851–4856.
- Mendel RR, Haensch R. 2002. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 1689–1698.
- Mitchell KJ. 1945. Preliminary note on the use of ammonium molybdate to control whiptail in cauliflower and broccoli crops. *New Zealand Journal of Science and Technology* A27: 287–293.
- Mullins MG, Bouquet A, Williams LE. 2000. *Biology of the grapevine*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Neubauer H, Pantel I, Lindgreen PE, Gotz F. 1999. Characterisation of the molybdate transport system ModABC of *Staphylococcus carnosus*. *Archives of Microbiology* 172: 109–115.
- Parker MB, Harris HB. 1977. Yield and leaf nitrogen of nodulating and nonnodulating soybeans as affected by nitrogen and molybdenum. *Agronomy Journal* 69: 551–554.
- Pastori GM, Rio LA. 1997. Natural senescence of pea leaves: an activated oxygen-mediated function for peroxisomes. *Plant Physiology* 113: 411–418.
- Patel U, Baxi MD, Modi VV. 1988. Evidence for the involvement of iron siderophore in the transport of molybdenum in cowpea *Rhizobium*. *Current Microbiology* 17: 179–182.
- Randall PJ. 1969. Changes in nitrate and nitrate reductase levels on restoration of molybdenum to molybdenum-deficient plants. *Australian Journal of Agricultural Research* 20: 635–642.
- Rech S, Wolin C, Gunsalus RP. 1996. Properties of the periplasmic ModA molybdate-binding protein of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* 271: 2557–2562.
- Reddy KJ, Munn LC, Wang L. 1997. Chemistry and mineralogy of molybdenum in soils. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Riley MM, Robson AD, Gartrell JW, Jeffery RC. 1987. The absence of leaching of molybdenum in acidic soils from Western Australia. *Australian Journal of Soil Research* 25: 179–184.
- Robinson B, Burne P. 2000. Another look at the Merlot problem—could it be molybdenum deficiency? *The Australian Grapegrower and Winemaker. 28th Annual Technical Issue* 427a: 21–22.
- Sagi M, Scazzocchio C, Fluhr R. 2002. The absence of molybdenum cofactor sulfuration is the primary cause of the flacca phenotype in tomato plants. *The Plant Journal* 31: 305–317.
- Sanchez-Fernandez R, Emyr Davies TG, Coleman JOD, Rea PA. 2001. The *Arabidopsis thaliana* ABC protein superfamily, a complete inventory. *Journal of Biological Chemistry* 276: 30231–30244.
- Sauer P, Frebort I. 2003. Molybdenum cofactor-containing oxidoreductase family in plants. *Biologia Plantarum* 46: 481–490.
- Schwacke R, Schneider A, van der Graaff E, Fischer K, Catoni E, Desimone M, et al. 2003. ARAMENON, a novel database for *Arabidopsis* integral membrane proteins. *Plant Physiology* 131: 16–26.
- Schwartz SS, Leon-Kloosterziel KM, Koornneef M, Zeevaart JAD. 1997. Biochemical characterisation of the ab2 and ab3 mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 117: 161–166.
- Scott ML. 1972. Trace elements in animal nutrition. In: Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL, eds. *Micronutrients in agriculture*. Madison, WI: Soil Science Society of America.
- Self WT, Grunden AM, Hasona A, Shanmugam KT. 2001. Molybdate transport. *Research in Microbiology* 152: 311–321.
- Shibagaki N, Rose A, McDermott JP, Fujiwara T, Hayashi H, Yoneyama T, et al. 2002. Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr1.2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots. *The Plant Journal* 29: 475–486.
- Sing M, Kumar V. 1979. Sulfur, phosphorus, and molybdenum interactions on the concentration and uptake of molybdenum in soybean plants. *Soil Science* 127: 307–312.
- Smith FW, Ealing PM, Hawkesford MJ, Clarkson DT. 1995. Plant members of a family of sulfate transporters reveal functional subtypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92: 9373–9377.
- Smith FW, Hawkesford MJ, Ealing PM, Clarkson DT, Vanden Berg PJ, Belcher AR, et al. 1997. Regulation and expression of a cDNA from barley roots encoding a high-affinity sulfate transporter. *The Plant Journal* 12: 875–884.
- Smith KS, Balistrieri LS, Smith SS, Severson RC. 1997. Distribution and mobility of molybdenum in the terrestrial environment. In: Gupta UC, ed. *Molybdenum in agriculture*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Spencer D, Wood JG. 1954. The role of molybdenum in nitrate reduction in higher plants. *Australian Journal of Biological Sciences* 7: 425–434.
- Stout PR, Meagher WR. 1948. Studies of the molybdenum nutrition of plants with radioactive molybdenum. *Science* 108: 471–473.
- Stout PR, Meagher WR, Pearson GA, Johnson CM. 1951. Molybdenum nutrition of crop plants. I. The influence of phosphate and sulfate on the absorption of molybdenum from soils and solution cultures. *Plant and Soil* 1: 51–87.
- Takahashi H, Asanuma W, Saito K. 1999. Cloning of an *Arabidopsis* cDNA encoding a chloroplast localising sulfate transporter isoform. *Journal of Experimental Botany* 50: 1713–1714.
- Takahashi H, Sasakura N, Noji M, Saito K. 1996. Isolation and characterisation of a cDNA encoding a sulfate transporter from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* 392: 95–99.
- Takahashi H, Wantanabe-Takahashi A, Smith FW, Blake-Kalff M, Hawkesford MJ, et al. 2000. The role of three functional sulfate transporters involved in uptake and translocation of sulfate in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 23.
- Thiel T, Pratte B, Zahalak M. 2002. Transport of molybdate in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413. *Archives of Microbiology* 179: 50–56.
- Unkles SE, Wang R, Wang Y, Glass ADM, Crawford NM, Kinghorn JR. 2004. Nitrate reductase activity is required for nitrate uptake into fungal but not plant cells. *Journal of Biological Chemistry* 279: 28182–28196.
- Vidmar JJ, Schjoerring JK, Touraine B, Glass ADM. 1999. Regulation of the hvst1 gene encoding a high-affinity sulfate transporter from *Hordeum vulgare*. *Plant Molecular Biology* 40: 883–892.
- Vieira RF, Cardoso EJB, Vieira C, Cassini STA. 1998. Foliar application of molybdenum in common beans. I. Nitrogenase and reductase activities in a soil of high fertility. *Journal of Plant Nutrition* 21: 169–180.
- Walkenhorst HM, Hemschemeier SK, Eichenlaub R. 1995. Molecular analysis of the molybdate uptake operon, mod-ABCD, of *Escherichia coli* and modR, a regulatory gene. *Microbiology Research* 150: 347–361.
- Walker RB. 1948. Molybdenum deficiency in serpentine barren soils. *Science* 108: 473–475.
- Wang G, Angermuller S, Klipp W. 1993. Characterisation of *Rhodobacter capsulatus* genes encoding a molybdenum transport system and putative molybdenum-pterin-binding proteins. *Journal of Bacteriology* 175: 3031–3042.
- Williams CMJ, Maier NA, Bartlett L. 2004. Effect of molybdenum foliar sprays on yield, berry size, seed formation, and petiolar nutrient composition of 'Merlot' grapevines. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1891–1916.
- Williams RJP, Frausto da Silva JJR. 2002. The involvement of molybdenum in life. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 292: 293–299.
- Witt HH, Jungk A. 1977. Beurteilung der Molybdänversorgung von Pflanzen mit Hilfe der Mo-induzierbaren Nitratreduktase-Aktivität. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 140: 209–222.
- Yaneva IA, Baydanova VD, Vunkova-Radeva RV. 2000. Nitrate reductase activation state in leaves of molybdenum-deficient winter wheat. *Journal of Plant Physiology* 157: 495–501.
- Zahalak M, Pratte B, Werth KJ, Thiel T. 2004. Molybdate transport and its effect on nitrogen utilisation in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413. *Molecular Microbiology* 51: 539–549.



Superintendencia de Servicios Sanitarios

Moneda 673, Piso 7
Código Postal: 6500721
Teléfono: 382 4000
Fax: 382 4002 / 382 4003
Santiago, Chile
e-mail: siss@siss.cl
<http://www.siss.cl>

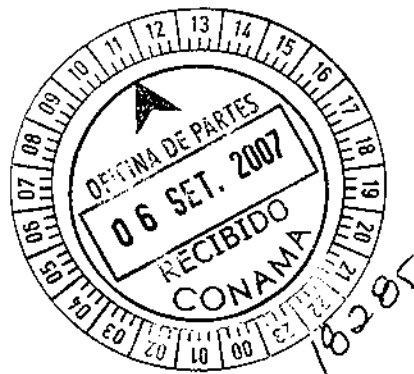
Oficina La Serena
Edif. Italia, Av. Balmaceda N° 391
Oficina N° 202
Teléfono: (051) 214597
Fax: (051) 214595
La Serena, Chile
e-mail: faserena@siss.cl

Oficina Talca
Edif. Portal Maule, Calle Uno Norte N° 931
Oficina N° 424
Teléfono: (071) 220447
Fax: (071) 228933
Talca, Chile
e-mail: talca@siss.cl

Oficina Concepción
Calle San Martín N° 880,
Block B - Oficina 103
Teléfono: (041) 214 746
Fax: (041) 214 880
Concepción, Chile
e-mail: concepcion@siss.cl

Oficina Temuco
Edif. Excell, Calle Miraflores N° 899
Oficina N° 501
Teléfono: (045) 236830
Fax: (045) 236908
Temuco, Chile
e-mail: temuco@siss.cl

Oficina Puerto Montt
Pedro Montt N° 72
Piso 2, Oficina 203
Teléfono: (065) 343900
Fax: (065) 343903
Puerto Montt, Chile
e-mail: ptomontt@siss.cl



ORD. N° 3395

ANT.: Of. Ord. DE N°072015 de
fecha 25.06.07

MAT.: Revisión DS 90. Envía
antecedentes

INC.: Copia doctos. indicados

SANTIAGO,

03 SEP 2007

DE : SUPERINTENDENTA DE SERVICIOS SANITARIOS

**A : SR. JEFE DEPTO. CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN
COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE**

Con relación a los antecedentes solicitados por su oficio Ord. DE N°072015/07, dentro del proceso de revisión de la "Norma de Emisión para la Regulación de los Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales" (DS N°90), informo a Ud. que en reunión del 31.07.07 del Comité Operativo, esta Superintendencia realizó dos presentaciones sobre los aspectos generales de la aplicación de esta norma y su fiscalización por esta entidad, tanto para las descargas de establecimientos industriales como de plantas de tratamiento de aguas servidas.

Por otra parte, según lo acordado y solicitado en la reunión mencionada, adjunto copia de los documentos que se detalla:

- Ord. SISS N° 1426/01.09.04, que incluye informe "Nutrientes en el afluente de plantas de tratamiento de aguas servidas"
- Convenio de Cooperación para la Fiscalización de Aguas Residuales en Medio Acuático. Directemar – SISS, de septiembre 2004 (*)
- Acuerdo entre el Ministerio de Salud y la Superintendencia de Servicios Sanitarios. Evaluación y fiscalización de aguas residuales, de noviembre 2005 (*)

(*) Documentos en etapa de complementación y actualización

Saluda atentamente a Ud.



MAGALY ESPINOSA SARRIA
Superintendente de Servicios Sanitarios



DPAINCR

DISTRIBUCIÓN:

- Sr. Jefe Depto. Control de la Contaminación/ CONAMA
- División de Fiscalización
- Unidad Ambiental
- Fiscalía
- Of. Partes

**Superintendencia de
Servicios Sanitarios**

000461



Moneda 673, Piso 7
Código Postal: 6500721
Teléfono: 382 4000
Fax: 382 4002 / 382 4003
Santiago, Chile.
e-mail: siss@sis.cl
<http://www.siss.cl>

Oficina Concepción
Calle San Martín N° 880,
Block B - Oficina 103
Teléfono: (041) 214746
Fax: (041) 214880
Concepción, Chile
e-mail: concepcion@sis.cl

Oficina Puerto Montt
Pedro Montt N° 72,
Piso 2 - Oficina 203
Teléfono: (065) 343900
Fax: (065) 343903
Puerto Montt, Chile
e-mail: ptomontt@sis.cl

ORD.: N° 1426 /
(Certificada)

MAT.: Revisión y eventual modificación del D.S. 90/00 respecto a la remoción de nutrientes en Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas.

INCL.: informe de nutrientes.

SANTIAGO, 1 SEP 2004

DE: SUPERINTENDENTE DE SERVICIOS SANITARIOS

A: SRA. PAULINA SABALL ASTABURUAGA
DIRECTORA CONAMA NACIONAL

1. En la ejecución de los procesos de fiscalización que esta SISS implementa hacia las Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas (PTAS) de las concesionarias de servicio público sanitario, se ha detectado una dispersión de resultados de concentración en los parámetros Nitrógeno Total Kjeldhal (NKT) y Fósforo Total (Pt) en las aguas servidas domésticas crudas que ingresan a las PTAS y que en algunos casos están por sobre los valores preestablecido en el D.S. 90/00, específicamente en la tabla que define al "Establecimiento Emisor" y Tabla N°1 que fija los límites máximos para descargas de residuos líquidos a cuerpos fluviales sin capacidad de dilución. Lo anterior es de especial interés, si se considera que el espíritu de la Norma D.S. 90/00, refrendado en los valores preestablecidos en la mencionadas tablas, es precisamente no requerir la remoción de estos parámetros para las PTAS, dado los altos costos adicionales asociados y que los clientes beneficiarios del servicio de tratamiento deberían absorber a través de la tarifa regulada.
2. A su vez, este tema actualmente es planteado por las empresas sanitarias en proceso de fijación tarifaria, en el sentido de exigir reconocer en la determinación de tarifa por tratamiento de aguas servidas las obras y costos operacionales adicionales para la remoción de estos parámetros.
3. En el Informe adjunto se realiza una evaluación integral del problema, y específicamente un análisis de data disponible en esta SISS, respecto a resultados de la calidad de las aguas servidas crudas para los parámetros mencionados, data recopilada durante el periodo de junio del 2003 junio del 2004, y la cual representa un 60% de las aguas servidas crudas totales generadas en nuestro país. Producto de este análisis, se formula la hipótesis sería que las aguas servidas crudas en Chile poseen concentraciones en estos parámetros superiores a los

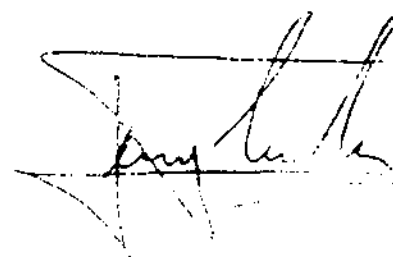
predefinidos en el D.S. 90/00, con la consideración de requerir estudios y/o análisis complementarios para confirmar tal hipótesis.

4. De esta forma, si se confirma la hipótesis planteada, y si se mantiene inalterable el espíritu y consideraciones que dieron origen al D.S. 90/00, en cuanto a que las PTAS no requieren remover nutrientes dado los costos adicionales e impacto tarifario asociado, surge la necesidad de dar inicio a un proceso de modificación del D.S. 90/00 al corto plazo, que evalúe el impacto ambiental de aumentar los niveles de descarga de estos parámetros en cursos de aguas fluviales sin dilución, y se pondere con el alto impacto socioeconómico, reflejado en tarifa, que significa la remoción de estos nutrientes en las Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas.
5. Por lo anterior, solicito a Ud. incluir la modificación respectiva en el próximo programa de revisión de normas, con la urgencia que amerita la situación ya especificada.

Saluda atentamente a Ud.,


DPAMES/PAIG/INCR/COM
DISTRIBUCION:

- Of. SISS 432.04 - 3319
- Sra Directora CONAMA Nacional.
 - División de Concesiones
 - División de Estudios
 - División de Fiscalización (UPC)
 - Oficina de Partes.



JUAN EDUARDO SALDIVIA MEDINA
SUPERINTENDENTE DE
SERVICIOS SANITARIOS

NUTRIENTES EN EL AFLUENTE DE PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS

1. OBJETIVO

El presente informe tiene como finalidad, presentar los antecedentes que la Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS) ha recopilado durante el periodo Julio 2003 a Junio 2004, respecto a la calidad de las aguas servidas crudas, para solicitar a la CONAMA la revisión y eventual modificación de los valores de concentración característicos de los parámetros Fósforo total (Pt) y Nitrógeno Total Kjeldahl (NKT), expresados en la tabla ESTABLECIMIENTO EMISOR del decreto supremo N° 90/00 ("Norma de Emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales"), y de concluirse tal modificación, consecuentemente se debería modificar los límites máximos para estos parámetros de la Tabla N° 1 del mencionado Decreto.

2.) ANTECEDENTES

2.1) Antecedentes normativos

En la tabla "Establecimiento Emisor" del D.S. N° 90/00, se establece los valores característicos de un establecimiento emisor que descarga residuos líquidos a cuerpos de agua receptores como producto de su proceso y que corresponden a los valores de concentración media de las aguas servidas domésticas crudas. En la tabla 2.1 se muestra algunos de los parámetros de esta tabla, característicos de las aguas servidas domésticas, y se comparan con los valores de la tabla 1 y 2 del DS 90/00, que define los límites máximos permitidos para la descarga de residuos líquidos a cuerpos de agua fluviales sin dilución y con dilución respectivamente, de la misma norma.

**Tabla 2.1. Comparación de valores característicos de algunos parámetros
versus límites de descarga Tabla N° 1 y 2 del D.S. N° 90/00**

Parámetros	Unidad	D.S. 609/98	D.S. 90/00		
		Tabla N° 1	Establ. Emisor	Tabla N° 1	Tabla N° 2
DBO5	mg/l	250	250	35	300
SST	mg/l	220	220	80	300
AyG	mg/l	60	60	20	50
Col. Fecales	NMP/100 ml		1x10E+07	1x10E+03	1x10E+03
NTK	mg/l		50	50	75
Pt	mg/l	5	10	10	15
NH+4	mg/l	50			

Como se puede observar de la relación entre las tablas que la Tabla N° 1 (Caracterización de aguas servidas domésticas correspondientes a 100 habitantes) del DS 609/98 que regula los contaminantes asociados a las descargas de residuos industriales líquidos a sistemas de alcantarillado, considera para la evaluación del nitrógeno, el nitrógeno amoniacal, el cual equivale aproximadamente al 80% de nitrógeno total.

Además de las tablas del DS 90/00, se puede comprobar que el espíritu de la Norma de emisión vigente no obliga la remoción de nutrientes (NKT y Pt) en las Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas (PTAS) cuando éstas descargan a cuerpos de aguas fluviales, por cuanto los valores de concentración predefinidos para el Establecimiento Emisor, son iguales e inferiores a los límites máximos para descargas a cuerpos de aguas fluviales sin y con capacidad de dilución del cuerpo receptor (tabla N° 1 y tabla N° 2 del D.S. 90/00 respectivamente). En efecto, y tal como es posible observar en las minutas y actas del proceso de elaboración de la mencionada norma, en el origen del anteproyecto los valores de límites máximos para descarga en cuerpos fluviales sin capacidad de dilución para los parámetros NKT y Pt eran 10 mg/l y 2 mg/l respectivamente, siendo que en la versión aprobada y vigente de la Norma, éstos valores aumentaron a los actualmente observados y coincidentes con los característicos de las aguas servidas domésticas. Lo anterior, fundamentado en el aumento de costos de inversión y operación requeridos en las PTAS para remover estos parámetros.

2.2) Impacto en la infraestructura sanitaria

La remoción de nutrientes en PTAS, significa niveles de inversión y costos operacionales adicionales a los requeridos para remover los otros parámetros asociados, ello debido al tipo de metodologías de abatimiento asociado a las PTAS y que resultan más eficientes dada la naturaleza del tratamiento.

Para el caso del NTK, el proceso de remoción se basa en procesos biológicos de nitrificación y desnitrificación, para los cuales se requiere aumentar tanto la edad del lodo como los tiempos de residencia hidráulica en la etapa de remoción biológica de la materia orgánica, lo que significa aumentar el tamaño de los reactores biológicos hasta volúmenes de un 60% superior al requerido para remover exclusivamente carga orgánica DBO, con el consecuente aumento en los costos de inversión, a esto se debe considerar el aumento de los costos operacionales, por el mayor requerimiento de oxígeno para la nitrificación.

Para el caso del fósforo, el proceso de remoción se basa en la precipitación química, mediante la adición de insumo coagulante (cloruro férrico), lo que hace aumentar entre un 20% a 30% la generación de lodos, con el consecuente aumento de capacidad de tratamiento requerida en la línea de lodos. Lo anterior, impacta directa en la inversión por aumento de capacidad de tratamiento de lodos requerida, además de aumentar los costos de operación por consumo del aditivo químico directo, aumento de los costos de energía e insumos químicos (polímeros) asociados al aumento de tratamiento de lodos requeridos y aumento en los costos de transporte y disposición de lodos generados.

2.3) Información disponible

La SISS en el proceso de fiscalización de Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas (PTAS) requiere a las empresas sanitarias un programa de monitoreo a las aguas servidas crudas que ingresan a las PTAS para ser tratadas (afluente).

De esta forma, se tiene información sistematizada de la calidad de las aguas servidas crudas producto de una campaña de monitoreo de 1 año (julio 2003 a junio del 2004), correspondiente a un 60% de las aguas servidas generadas a nivel nacional.

Las características de estas muestras se definen a continuación:

	Muestras de NKT	Muestras de Pt
Puntuales	504	310
Compuesta 24 horas	1.246	1.400
Total	1.750	1.710

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1) Análisis de factores externos que inciden en los resultados obtenidos

El primer análisis a ejecutar, consiste en determinar si los resultados obtenidos responden a la presencia de factores externos no propios de las aguas servidas domésticas crudas en Chile. Para este análisis, y a modo de hipótesis, es posible identificar estos factores externos que podrían incidir en los resultados obtenidos, respecto a los parámetros en cuestión, los cuales se indican a continuación:

- Presencia de Riles
- Error de la metodología de muestreo y análisis
- Estacionalidad
- Distribución geográfica

3.1.1) Presencia de Riles

La eventual presencia de Riles en incumplimiento de D.S. MOP N° 609/98 de los parámetros de estudio, norma que regula las descargas de Riles a sistemas de alcantarillado, corresponde al factor más importante que podría incidir en la obtención de resultados, ello por cuanto las empresas sanitarias tienen la obligación de fiscalizar el cumplimiento de la mencionada Norma y por lo tanto las aguas servidas que tributan a PTAS autorizadas no deberían tener aporte de Riles.

El proceso de eliminación de este factor de la información total disponible, consistió en identificar los establecimientos industriales que se encuentran en incumplimiento de la Norma 609 para estos parámetros, y eliminar los resultados de afluente de las PTAS a los cuales estos establecimiento tributan.

A su vez, y para mayor seguridad, se eliminaron todos los resultados de aguas servidas crudas cuyos valores superan los 100 mg/l para el caso del NKT y 20 mg/l para el caso del Pt.

De esta forma, la información final de análisis se modifica de la siguiente forma:

	Muestras de NKT		Muestras de Pt	
	Total	Menos efecto Riles	Total	Menos efecto Riles
N° muestras	1.750	1.662	1.710	1.642

Importante de destacar, es que la eliminación de este factor externo se encuentra supeditado a los resultados de la fiscalización que las empresas sanitarias ejecutan hacia los establecimientos industriales que descargan al alcantarillado.

3.1.2) Error en la metodología de muestreo y análisis

Los resultados disponibles corresponden en un 100% a análisis realizados por laboratorios acreditados por el Instituto Nacional de Normalización (INN), requerimiento establecido por la SISS con el objeto de "eliminar" la dispersión de valores por errores metodológicos y aumentar la confiabilidad en los resultados obtenidos.

Respecto a la metodología de muestreo, esta actividad se encuentra regulada normada por las NCh 411/1/2/10 (metodología de muestreo, programa y técnicas de preservación y tiempo) y actualmente se actualiza a instancias del INN la NCh 411/10.

En resumen, se puede concluir que no existe efecto significativo por este factor en los resultados de la información disponible.

3.1.3) Análisis del factor Estacionalidad

Para evaluar la incidencia de este factor, se graficó la dispersión de datos de calidad de aguas servidas crudas para ambos parámetros y para el periodo de análisis, que considera 1 año completo, representativo de la estacionalidad. Los gráficos N° 1 y 2 muestran los resultados obtenidos.

Gráfico N° 1: Dispersión Estacional del Nitrógeno en aguas servidas crudas

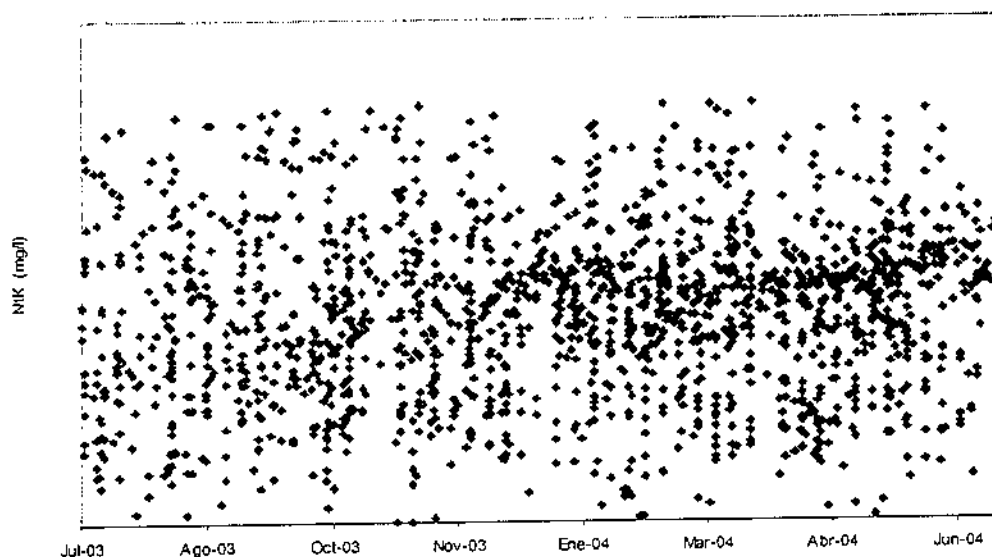
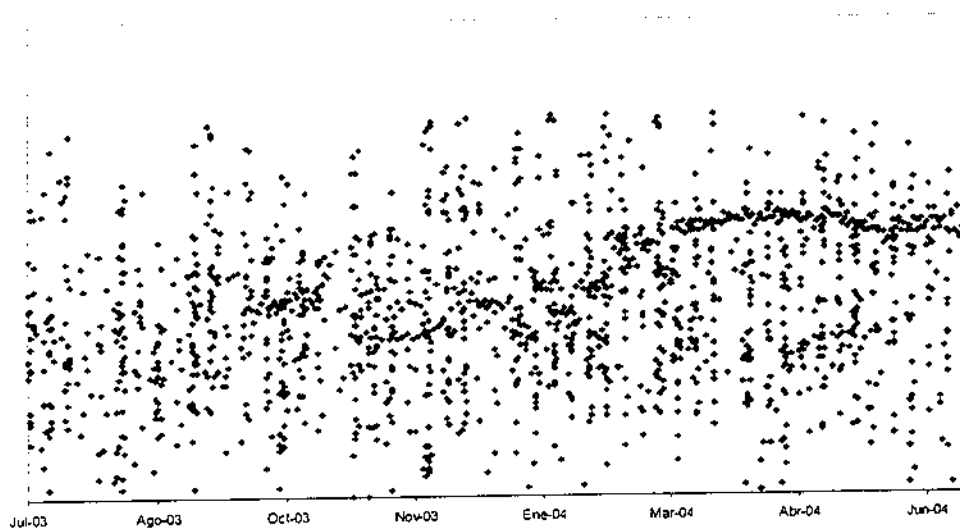


Gráfico N° 2: Dispersión Estacional del Fósforo en aguas servidas crudas



De los gráficos anteriores, no es posible observar claras tendencias de estacionalidad en los parámetros en estudio. Alguna concentración de valores entre los meses de enero a junio para el caso del NKT y entre los meses de marzo a junio para el caso del Pt, pero poco concluyente.

3.1.4 Análisis de dispersión geográfica

Los gráficos N° 3 y 4, muestra los resultados de dispersión geográfica de concentración NTK y Pt de las aguas servidas crudas en el afluente de las PTAS, durante el período Julio'03 a Junio'04.

Gráfico N° 3: Dispersión Geográfica del Nitrógeno en aguas servidas crudas

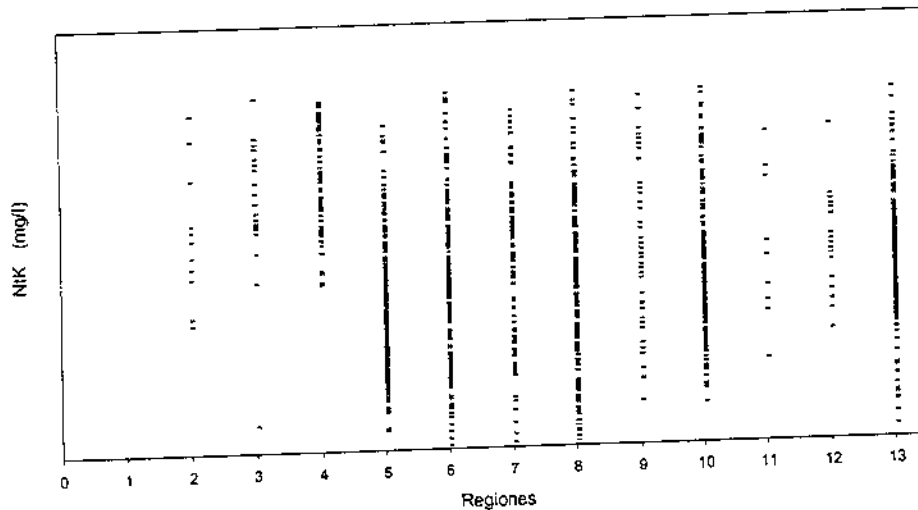
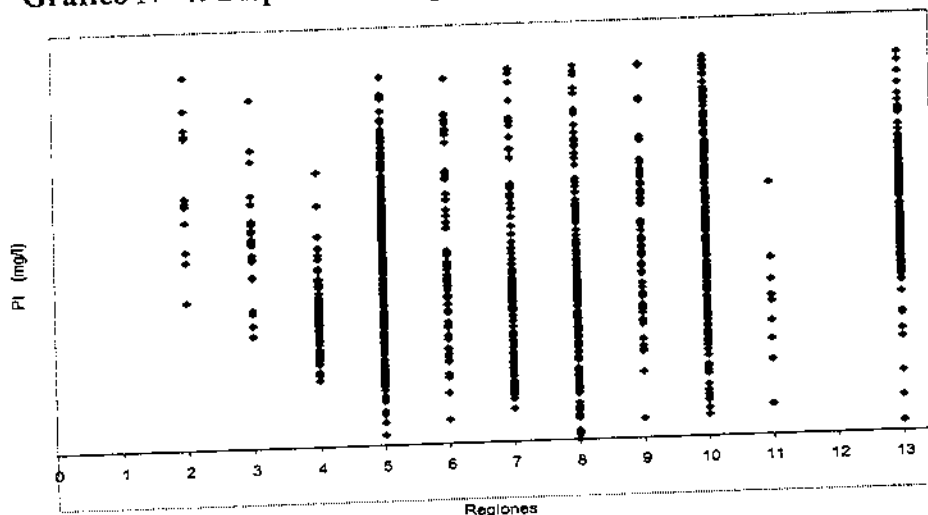


Gráfico N° 4: Dispersión Geográfica del Pt en aguas servidas crudas



De los gráficos anteriores se puede concluir que el efecto geográfico no impacta en los resultados.

En resumen, el análisis de factores externos asociados a la dispersión geográfica, dispersión estacional, y errores metodológicos indica que no existe correlación entre éstos y los resultados obtenidos. Para el caso del impacto de Riles, la depuración a la información original permite eliminar el efecto de este factor en los resultados.

3.2) Análisis de frecuencia

En los gráficos N° 5 y 6 se observa la frecuencia de resultados de ambos parámetros, para las muestras consideradas en el análisis

Gráfico N° 5: Análisis de frecuencia – Nitrógeno

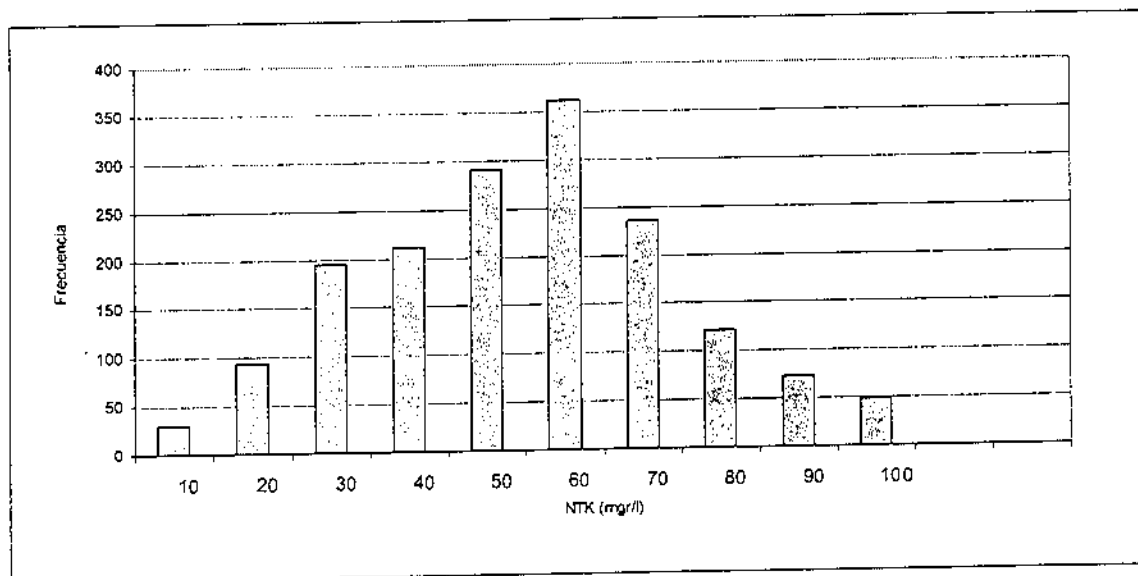
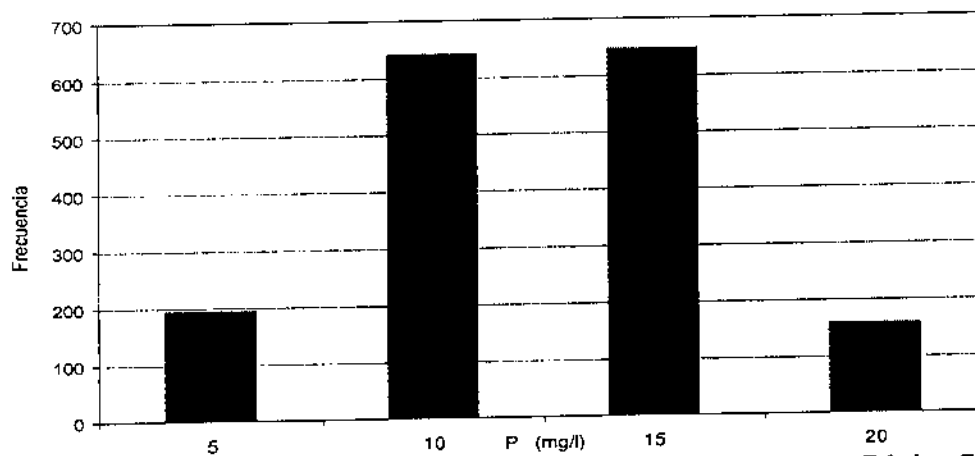


Gráfico N° 6: Análisis de frecuencia – Fósforo



De los gráficos N° 5 y 6, se puede concluir lo siguiente:

Para el Nitrógeno Total Kjeldhal:

- La mayor cantidad de registros se encuentra entre los 50 y 60 mg/l (362 muestras), correspondiente al 22% de los datos.
- Le sigue, los registros ubicado entre los 40 y 50 mg/l (291 muestras), equivalente al 17.5% de los datos.
- Además, se puede indicar que el promedio es igual a 49.3 mg/l y la desviación estándar de los datos corresponde a 20.2 mg/l.

Para el fósforo total:

- La mayor cantidad de registros se encuentra entre los 5 y 15 mg/l (1.288 muestras), correspondiente al 78.4% de los datos.
- Además, se puede indicar que el promedio es igual a 10.04 mg/l y la desviación estándar de los datos corresponde a 4.06 mg/l.

3.3) Análisis de percentiles

Además del análisis de frecuencia, otro análisis que ayuda a la obtención de conclusiones es el análisis de percentiles. Los gráficos N° 7 y 8 muestran los resultados obtenidos sobre el total de muestras analizadas.

Gráfico N° 8: Percentiles para muestras de NKT en aguas servidas crudas

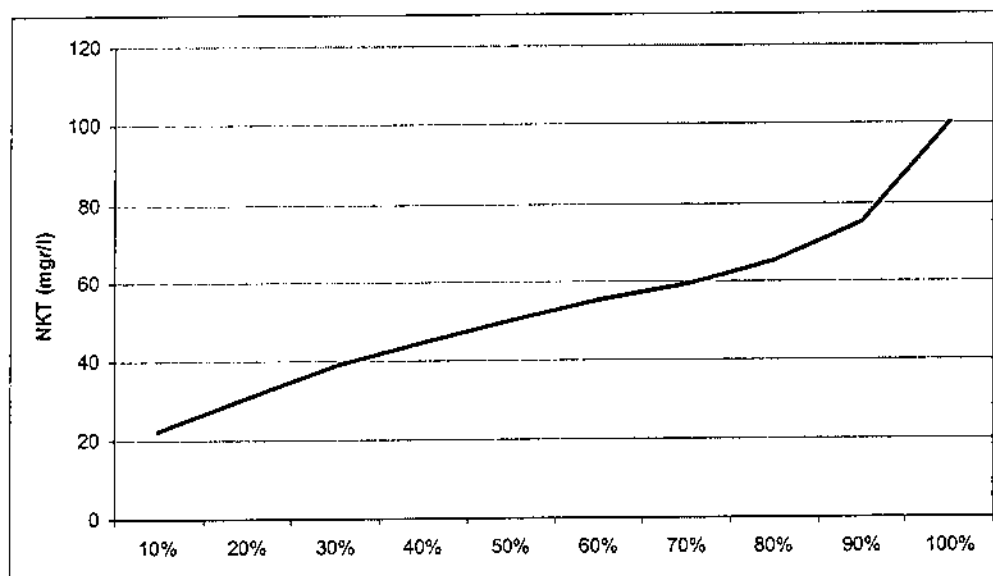
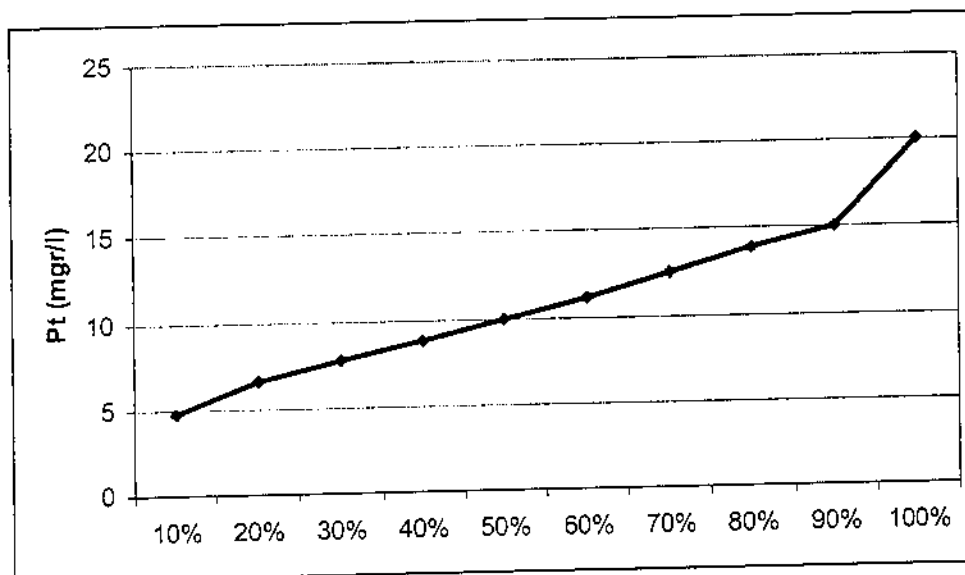


Gráfico N° 9: Percentiles para muestras de Pt en aguas servidas crudas



De los gráficos N° 8 y 9 se puede concluir lo siguiente:

- Para ambos casos, el 50% de las muestras se encuentran sobre el valor de 50 mg/l y 10 mg/l, para el NKT y Pt respectivamente.
- Para ambos casos, el 90% de las muestras se encuentran bajo el valor de 75 mg/l y 15 mg/l, para el NKT y Pt respectivamente.

4) Conclusiones Generales

En base a los antecedentes disponibles respecto a la caracterización de las aguas servidas crudas, y que consideran un programa de muestreo por un periodo de 1 año (julio 2003 a junio 2004) a cerca del 60% del total de las aguas servidas domésticas en Chile, se puede postular la hipótesis que las concentraciones promedio en los parámetros Nitrógeno Total Kjeldhal y Fósforo total serían superiores a los valores predefinidos en el D.S. 90/00, específicamente en la tabla de "Establecimiento Emisor".

De comprobarse esta hipótesis y en el contexto de mantener el espíritu de la Norma en cuanto a que las Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas no requieren remover estos parámetros dado el aumento de costos de inversión y operación y consecuente aumento tarifario por servicio de tratamiento, es que se requiere una modificación de los valores de concentración de la mencionada tabla y, consecuentemente, de los límites máximos definidos al menos en la Tabla N° 1, que regula las descargas de residuos líquidos a cuerpos de agua fluviales.

LRA/COM

Santiago, Agosto de 2004

ACTA REUNIÓN MESA TÉCNICA ACUERDO DIRECTEMAR-SISS**Antecedentes:**

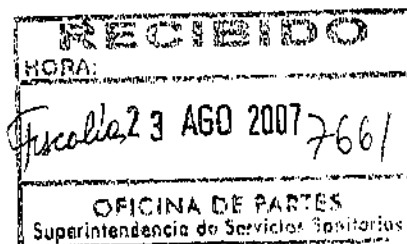
FECHA : Martes 19 de junio de 2007.
 HORA : 11:30 hrs.
 LUGAR : Dirección de Intereses Marítimos y Medio Ambiente Acuático

Participantes:**A.- DIRINMAR:**

- a) CN LT Sr. Juan Pablo Heusser Risopatrón.
- b) CN LT Sr. Hernán Paredes Benavides.
- c) CF LT Sr. Christian Cid Monroy.
- d) Sr. Roberto Goldenberg Fernández.
- e) Sr. Mario Herrera Araya.

B.- SISS:

- a) Sr. Carlos Órdenes Meza.
- b) Sra. M. Fernanda Bravo Bahamondes. ✓
- c) Sr. Simón Bruna Gutiérrez.

**Antecedentes de la reunión:**

De conformidad lo disponen las cláusulas segunda y décima del convenio suscrito el 06-09-04 entre la DIRECTEMAR y la SISS, esto es, conformar una mesa técnica y someter las acciones ejecutadas a una revisión periódica y en consecuencia proceder a su modificación y/o actualización, respectivamente, acorde con los criterios establecidos en el referido convenio, se invitó a la Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), a una reunión con la finalidad de analizar las exigencias que establecen ambas instituciones para otorgar las resoluciones de monitoreo de autocontrol emitidas por ambos servicios y establecer una estrategia para la fiscalización de la norma de emisión aprobada por el D.S. MINSEGPRES N°90/2000.

Temas abordados

1. Solicitud de coordinación entre ambas instituciones, efectuada por la Empresa METHANEX S.A.
2. Evaluar si existe duplicidad de exigencias por parte de DIRECTEMAR y SISS sobre las mismas empresas.
3. Coordinar el universo que fiscaliza ambas instituciones.

Acuerdos

A.- Respuesta a METHANEX

1. DIRINMAR (Dirección de Intereses Marítimos y Medio Ambiente Acuático) será quien responda directamente la solicitud presentada por la Empresa METHANEX S.A., con copia a la SISS.
2. Se acuerda que sea la Autoridad Marítima quien le fije el monitoreo de autocontrol a la Empresa METHANEX S.A., con copia a la SISS.
3. La SISS y DIRECTEMAR procederán a fiscalizar en forma independiente a METHANEX S.A., de acuerdo a las condiciones que establezca la Autoridad Marítima en su Resolución de Monitoreo de Autocontrol.

B.- Sobre las Resoluciones de Monitoreo de Autocontrol de las Empresas:

4. Se acuerda que, para los establecimientos industriales que califican como generadores de Riles y cuya descarga se efectúa en áreas bajo competencia de la Autoridad Marítima, (esto es el medio ambiente marino, conformado por las aguas interiores de golfos, bahías, estrechos y canales, cualesquiera sea la distancia que exista entre sus costas, el mar territorial, la zona contigua, y la zona económica exclusiva; los lagos de dominio público navegables por buques de más de 100 toneladas, y los ríos navegables hasta donde alcanzan los efectos de las mareas) será DIRECTEMAR la autoridad que dicte las Resoluciones de Monitoreo para establecer el proceso de autocontrol de la descarga, enviando acto seguido una copia de dicha resolución a la SISS. Se incluirá entre las disposiciones a cumplir por el fiscalizado, una cláusula referida al envío de los resultados de los monitoreos, ya sea a través del sitio Web dispuesto por la SISS o en la forma que ésta determine (acordar en próxima reunión de la mesa técnica).

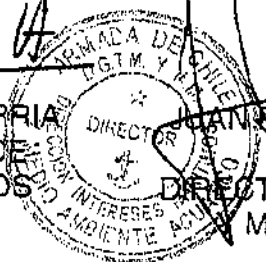
Sin perjuicio de lo anterior y para aquellas áreas no comprendidas dentro de la jurisdicción de DIRECTEMAR, así como también para las Empresas Prestadoras de Servicios Sanitarios, será la SISS la única autoridad que dictará las Resoluciones de Monitoreo de Autocontrol, aunque consideren descargas al medio marino.

5. La SISS se compromete a derogar aquellas Resoluciones de Monitoreo dictadas para los establecimientos emisores emplazados en áreas dentro de la jurisdicción de la Autoridad Marítima, una vez que DIRECTEMAR dicte la correspondiente resolución de monitoreo para dicho establecimiento y ello sea comunicado a la SISS.

C.- Sobre el Procedimiento de Fiscalización:

6. Ambas instituciones acuerdan en "fiscalizar a los establecimientos emisores en forma independiente", bajo las condiciones establecidas por las Resoluciones de Monitoreo de Autocontrol fijados por la Autoridad competente, de acuerdo a la coordinación previamente establecida, evitando la duplicidad o interferencia de funciones de conformidad a lo establecido en el artículo 5° de la Ley N° 18.575/86.
7. Se acuerda mantener una comunicación periódica y expedita respecto a los resultados y antecedentes de los monitoreos que se reciban de aquellas empresas que descargan en áreas de jurisdicción de DIRECTEMAR.
8. La DIRINMAR (Dirección de Intereses Marítimos y Medio Ambiente Acuático) hará llegar a la SISS en un plazo no superior a 10 días a contar de esta fecha, el listado de todas las empresas bajo jurisdicción de la Autoridad Marítima en relación al cumplimiento al D.S. 90 MINSEGPRES a fin de cotejar el universo de empresas que están sometidas a la fiscalización tanto de la SISS como de la DIRECTEMAR.
9. Aquellas empresas que no den cumplimiento al D.S. MINSEGPRES N° 90, y que además no cuenten con la respectiva Resolución de Calificación Ambiental, sus antecedentes serán remitidos, tanto a la COMANA como a la SISS, para su pertinente sanción.

MAGALY ESPINOSA SARRIA
SUPERINTENDENTE DE
SERVICIOS SANITARIOS



JUAN PABLO HEUSSER RISOPATRÓN
CAPITÁN DE NAVIO LT
DIRECTOR DE INTERESES MARÍTIMOS
Y MEDIO AMBIENTE ACUÁTICO



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE SALUD



Superintendencia de
Servicios Sanitarios

ACUERDO ENTRE EL MINISTERIO DE SALUD Y LA SUPERINTENDENCIA DE SERVICIOS SANITARIOS

EVALUACION Y FISCALIZACION DE AGUAS RESIDUALES



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE SALUD




Superintendencia de
Servicios Sanitarios

ACUERDO MINSAL-SISS
EVALUACION Y FISCALIZACION DE AGUAS RESIDUALES

En Santiago, 28 de noviembre de 2005, el Sr. Juan Eduardo Saldivia Medina por la Superintendencia de Servicios Sanitarios y la Sra. Cecilia Villavicencio Rosas por el Ministerio de Salud, suscriben el presente Documento y se comprometen a dar cumplimiento a los Acuerdos especificados en él.




SUBSECRETARIA DE SALUD PÚBLICA
Cecilia Villavicencio Rosas



SUPERINTENDENTE DE SERVICIOS SANITARIOS
Juan Eduardo Saldivia Medina

INDICE

1. OBJETIVO GENERAL	5
2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	5
3. ALCANCE	5
4. NORMATIVA APLICABLE	6
4.1. LEYES Y REGLAMENTOS	6
4.2. NORMAS DE EMISIÓN	6
4.3. NORMAS DE CALIDAD	6
4.4. NORMAS TÉCNICAS:	6
4.5. ÓRDENES E INSTRUCTIVOS	7
4.6. MANUALES	7
5. PRINCIPIOS	8
5.1. REFORZAR LA INSTITUCIONALIDAD Y DELIMITAR COMPETENCIAS	8
5.2. COORDINACIÓN	8
6. ACUERDOS	9
6.1. CONSTITUCIÓN DE MESAS TECNICAS	9
A. MESA TÉCNICA PERMANENTE	9
B. MESAS TÉCNICAS ESPECIALES	9
i. Mesa técnica "Uso de By pass y su seguimiento"	9
ii. Mesa técnica "Olores de PTAS"	9
6.2. EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL	9
A. PROYECTOS QUE GENERAN RESIDUOS LÍQUIDOS	9
i. Competencias	9
ii. Descripción de Proyecto	10
iii. Antecedentes sobre el Area de Influencia del Proyecto o Línea de Base	12
iv. Normativa y Referencias Técnicas de Carácter Ambiental	17
v. Permisos Ambientales Sectoriales	19
vi. Programa de Monitoreo	19
vii. Medidas de Contingencia	20
B. PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS	20
i. Competencia	20
ii. Descripción de Proyecto	21
iii. Línea de Base o Área de Influencia del Proyecto	23
iv. Normativa y Referencias de Carácter Técnico Ambiental	23
v. Permisos Ambientales Sectoriales de los Arts 91 y 93 del Reglaemento del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental	24
vi. Programa de Monitoreo	24
vii. Medidas de Contingencia	25

viii. Medidas de Mitigación	26
viii. Exigencias Extra-SEIA	26
6.3. FISCALIZACIÓN	26
A. RILES	26
i. Competencias	26
ii. Criterios de Fiscalización	26
iii. Procedimientos de Fiscalización	27
iv. Denuncias	28
v. Información	28
B. PTAS	28
i. Competencia	28
ii. Lodos de PTAS	28
iii. Olores de PTAS	29
iv. Vertederos de Tormenta y Colectores Unitarios	29
v. Flujos de Información	29
6.4. TEMAS TRANSVERSALES	30
A. TEMAS NORMATIVOS	30
B. PROYECTOS PARTICULARES DE RECOLECCIÓN, TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE AGUAS SERVIDAS	30
C. OBLIGATORIEDAD DE CONEXIÓN A LAS REDES PÚBLICAS DE ALCANTARILLADO (ARTÍCULO 39 DFL 382/88 MOP)	31

1. OBJETIVO GENERAL

Este Acuerdo tiene como objetivo coordinar las acciones del Ministerio de Salud (MINSAL) y de la Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), en materia ambiental, a través de procedimientos estandarizados de evaluación y fiscalización de aguas residuales.

Este Acuerdo debe además permitir abordar de manera proactiva, eficiente y coordinada la evaluación y fiscalización de la contaminación por aguas residuales que se dispongan en cursos o masas de agua superficiales y/o subterráneas.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a. Promover el cumplimiento del D.S N°90/00, del Ministerio Secretaría General de la Presidencia (MINSEGPRES), en adelante D.S. N°90/00 y del D.S. 46/02 del Ministerio Secretaría General de la Presidencia, en adelante D.S. N°46/02.
- b. Promover el adecuado manejo, uso y/o disposición de los lodos que generan los Sistemas de Tratamiento de Residuos Líquidos y las Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas.
- c. Promover el control de posibles impactos generados por la operación de los sistemas de tratamiento, tales como generación de olores, vectores, etc.
- d. Ejercer las funciones públicas de evaluación y fiscalización de aguas residuales coordinadamente y desarrollar flujos de Información con el objetivo de optimizar los recursos del Estado en el cumplimiento de estas funciones.
- e. Estandarizar los requerimientos para proyectos generadores de Residuos Líquidos y de PTAS que se presentan al Sistema de Evaluación Ambiental, en adelante SEIA, y determinar la responsabilidad de cada Institución en cada materia acordada.
- f. Verificar el cumplimiento de la normativa ambiental asociada a aguas residuales y a asimismo, en el caso de PTAS, que el servicio público sanitario se está prestando en condiciones de calidad y eficiencia de acuerdo a lo autorizado.

3. ALCANCE

El ámbito en que se ejecutarán las acciones contenidas en este Acuerdo corresponde a la evaluación y la fiscalización de descargas de aguas residuales generadas por:

- a. Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas, en adelante PTAS.
- b. Actividades Económicas, en adelante AE.
- c. Establecimientos Industriales, en adelante EI, con y sin Planta de Tratamiento de Riles.

4. NORMATIVA APLICABLE

4.1. LEYES Y REGLAMENTOS

- El D.F.L. N°725 de 1967 del MINSAL, Código Sanitario y sus Reglamentos.
- El D.S. N° 1775 de 1995 del MINSAL, Norma para la aplicación del Artículo 75 del Código Sanitario.
- La Ley N° 19.937, que modifica el D.L. N° 2.763, de 1979, con la finalidad de establecer una nueva concepción de la autoridad sanitaria, distintas modalidades de gestión y fortalecer la participación ciudadana.
- La Ley 18.902, que crea la Superintendencia de Servicios Sanitarios y sus modificaciones.
- El D.F.L. MOP N°382/88 Ley General de Servicios Sanitarios
- Ley N°19.300 Sobre Bases Generales del Medio Ambiente y el Decreto Supremo N°95/01, del MINSEGPRES, Reglamento del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental.
- El D.S. N° 594/99 de MINSAL. Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales en los lugares de trabajo y sus modificaciones.

4.2. NORMAS DE EMISIÓN

- El D.S.609/98, Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Industriales Líquidos a sistemas de Alcantarillado.
- El D.S. N°90/00 del MINSEGPRES. Norma de Emisión para la Regulación de Contaminantes Asociados a las Descargas de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales.
- El D.S. N° 46/02 del MINSEGPRES. Norma de Emisión de Residuos Líquidos a Aguas Subterráneas.

4.3. NORMAS DE CALIDAD

- Norma NCh 1333/Of.78 Requisitos de calidad de Agua para Diferentes Usos.
- Normas de Calidad de Aguas Marinas y Continentales Superficiales.

4.4. NORMAS TÉCNICAS

- NCh 411. Partes 2, 3 y 10 Guías sobre calidad de agua: sobre técnicas de muestreo, sobre la preservación y manejo de las muestras, y sobre el muestreo de aguas residuales, respectivamente.
- NCh-ISO 17025/01 Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayos y calibración.
- NCh 2313. Métodos de análisis.

- NCh 2472. Aguas Residuales-Plantas Elevadoras-Especificaciones Generales.

4.5. ÓRDENES E INSTRUCTIVOS

- Resolución SISS N°2505, de 29 de septiembre de 2003, que establece el Procedimiento para la Calificación de Establecimiento de Industrial (PCEI).
- Oficios SISS N°1056 y N°1259, de 2003, que establecen los procedimientos de fiscalización en Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas.
- Resolución SISS N° 1145/97 "Requisitos para un Laboratorio de Aguas".
- Resolución SISS N° 1442, de 2 de Junio de 2004, que aprueba el Formato N° 2 D.S. MINSEGPRES N° 90/00 "Caracterización de Riles" y su Instructivo, para presentación ante la SISS, de la Caracterización de los Residuos Líquidos Industriales descargados a cuerpos de aguas superficiales continentales y lacustres.
- Oficio SISS N° 1394, de 8 de Agosto de 2004, que Informa sobre futuro actuar de la SISS en materia de Proyectos de Aguas Servidas y Agua Potable emplazados en zonas urbanas, de expansión urbana, ZODUC, Artículo 55 de la LGUC.
- Oficio Ord N°B 5067, de 23 de octubre de 2004, del SESMA, que fija el Acuerdo Intersectorial "Sistemas de Agua Potable y Aguas Servidas que Abarcan Grandes Cantidades de Población ubicados en zonas rurales, urbanizables y zonas de desarrollo controlado (ZODUC).
- Dictámen de Contraloría General de la República N° 774, de 18 de Febrero de 1994, sobre atribuciones de los Servicios de Salud en relación a las Aguas y sus usos sanitarios y sobre Residuos Industriales Líquidos, en adelante RILES.

4.6. MANUALES

- Manual CONAMA de Aplicación del D.S. N° 90/00 MINSEGPRES.
- Manual CONAMA de Aplicación del D.S. N° 46/02 MINSEGPRES.

5. PRINCIPIOS

Este Acuerdo se sustenta en dos grandes fundamentos o principios que lo inspiran, siendo éstos el marco que rige el accionar de las Partes, ya sea en la interpretación y aplicación del Acuerdo, como en el trabajo en las mesas técnicas que se constituirán en virtud de éste.

5.1. REFORZAR LA INSTITUCIONALIDAD Y DELIMITAR COMPETENCIAS

Es un Principio de este Acuerdo reforzar y delimitar las competencias de las Partes en la evaluación y fiscalización de aguas residuales, potenciando, las capacidades técnicas y las instancias de coordinación.

5.2. COORDINACIÓN

Es un principio rector de este Acuerdo la Coordinación de las Partes en el ejercicio de sus funciones de evaluación y fiscalización de las aguas residuales, con los objetivos últimos, de optimizar los recursos del Estado en el ejercicio de las funciones públicas; y de conservar, proteger y mejorar el medio ambiente.

Este fortalecimiento de la coordinación en el ejercicio de las funciones públicas permitirá a las Partes elaborar y mejorar procedimientos y políticas ambientales en materia de aguas residuales.

Por otra parte, se menciona que las Resoluciones de Calificación Ambiental de los proyectos de saneamiento ambiental tienen un efecto directo en el cálculo de las tarifas de los servicios sanitarios, y por tanto, afectan el costo final de las tarifas a pagar por los usuarios.

Por tanto, es importante para las Partes ponderar las implicancias tarifarias de los requerimientos técnicos y/o administrativos en la evaluación ambiental de las PTAS.

6. ACUERDOS

6.1. CONSTITUCIÓN DE MESAS TÉCNICAS

Las Partes acuerdan la constitución de las siguientes mesas técnicas:

A. MESA TÉCNICA PERMANENTE

Las Partes se comprometen a constituir una mesa técnica permanente que tendrá como objetivo ser una instancia resolutoria en materias relacionadas a la evaluación y la fiscalización de Aguas Residuales.

B. MESAS TÉCNICAS ESPECIALES

Con el objetivo de desarrollar los procedimientos y resolver las cuestiones pendientes en este Acuerdo, las Partes se comprometen a constituir las siguientes mesas técnicas:

- i. MESA TÉCNICA “USO DE BY PASS Y SU SEGUIMIENTO”
- ii. MESA TÉCNICA “OLORES DE PTAS”

Las Partes constituirán estas mesas técnicas dentro de los 30 días siguientes a la suscripción de este Acuerdo. Las copias de las actas de constitución de estas mesas técnicas se enviarán a los respectivos Jefes de Servicio.

Las instrucciones o acuerdos que se generen del trabajo de estas mesas técnicas se entenderán parte integrante de este Acuerdo.

Esta mesa tendrá plenas facultades para modificar este Acuerdo en base a un procedimiento que ésta misma establezca.

6.2. EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL

Las Partes acuerdan las siguientes orientaciones para la evaluación de impacto ambiental de proyectos que generan residuos líquidos y PTAS, delimitando sus competencias en las materias acordadas.

Se señala que este Acuerdo es sin perjuicio de las Orientaciones que pueda elaborar la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), como organismo administrador del SEIA en materia de proyectos que generan Residuos Líquidos y PTAS.

Finalmente, se reconoce la competencia de los demás organismos con competencia ambiental sectorial en los temas tratados en este Acuerdo.

A. PROYECTOS QUE GENERAN RESIDUOS LÍQUIDOS

i. COMPETENCIAS

La SISS participa en el SEIA como un organismo con competencia ambiental sectorial en la evaluación de impacto ambiental de proyectos que generan residuos líquidos, al ejercer funciones fiscalizadoras respecto de las normas de emisión, el DS N° 90/00, el DS

N° 46/02, del MINSEGPRES y el DS N° 609/98 del MOP. Por tanto, los requerimientos de la SISS para este tipo de proyectos van estar siempre vinculados a la verificación del cumplimiento de esta normativa ambiental.

Por su parte, la Autoridad Sanitaria Regional actúa como organismo con competencia ambiental sectorial en el SEIA, al tener facultades fiscalizadoras en las normas de emisiones antes indicadas y por emitir pronunciamientos respecto de los proyectos sometidos al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, en adelante REIA, en cuanto digan relación con la protección de la salud de la población. En este contexto, el MINSAL actúa como organismo rector del sector salud, y como tal se encuentra facultado para dictar las normas e instruir respecto de la aplicación de las mismas.

Los Acuerdos de las Partes en esta materia no alteran estas competencias, pero se delimitan conforme lo que se pasa a exponer.

ii. DESCRIPCIÓN DE PROYECTO

En cuanto a la descripción de proyecto, las Partes requerirán la siguiente información conforme a sus competencias y según lo que se especifica para cada ítem tratado:

• **Antecedentes Generales**

- Clasificación industrial uniforme (CIIU) y giro específico asociado a la generación de Residuos Líquidos. (SISS)
- Plano de emplazamiento del proyecto a escala adecuada, para analizar el efecto en su área de influencia, en el que se señale, si es pertinente, su ubicación, nombre de calles colindantes, los accidentes geográficos cercanos importantes, las unidades de producción, la zona de tratamiento de Residuos Líquidos indicando la superficie total construida, área administrativa, zonas de almacenamiento, viviendas, puntos de acceso al establecimiento, ubicación de uniones domiciliarias y de cámaras de muestreo. Además, dentro de un radio 300 m (3 cuadras) se debe indicar la existencia y ubicación de (Autoridad Sanitaria Regional):
 - Viviendas
 - Establecimientos educacionales
 - Establecimientos de atención de salud pública y privada.
- Si corresponde, descripción y diagrama de flujo del proceso industrial o actividad productiva, indicando la naturaleza de cada proceso, la incorporación de materia prima, agua e insumos. Especificar, si es pertinente, los ritmos de producción máximos. (SISS).
- Generación de Residuos Líquidos (SISS)

- Volumen de efluentes líquidos generados, especificando valores máximos y medios.

	Volumen medio generado m ³	Volumen medio descargado m ³	Volumen máximo generado m ³	Volumen máximo descargado m ³
Año				
Mes				
Día				

- Indicar la forma de evacuación de cada una de las descargas de Residuos Líquidos, especificando si es continua, discontinua o esporádica, volumen máximo a evacuar y la frecuencia de cada una de ellas, si corresponde.

N° de Descarga	Forma de Evacuación (continua, discontinua, esporádica)	Volumen máximo (m ³)	Frecuencia (hr/día)

- Estimación de las características física, química y bacteriológica de los Residuos Líquidos generados, antes de su tratamiento, considerando los parámetros normados y no normados. Para el caso de los parámetros normados, esta información se debe proporcionar de acuerdo al formato disponible en la página Web de la SISS.

Para la evaluación ambiental de la modificación de proyectos en ejecución, el titular deberá acompañar la caracterización de su Residuos Líquidos, y una estimación de los nuevos Residuos Líquidos a generar. (SISS)

- **Requisitos para los Generadores que disponen de un Sistema de Tratamiento Propio (SISS)**
 - Descripción del sistema de tratamiento que se proponga adoptar, indicando los procesos unitarios y sus respectivas eficiencias (balance de masa, balance hídrico, etc)
 - Diagrama de flujo y planos generales de la planta de tratamiento de Residuos Líquidos y de todas las unidades involucradas, detallando en cada unidad del proceso los caudales de entrada y salida.
 - Si el sistema de tratamiento contempla lagunas u otros depósitos para almacenar los efluentes, tratados o sin tratar, se deberá incluir información relativa a la

capacidad, en términos de volumen y días de producción, y sistema de impermeabilización de los depósitos.

- Descripción de las instalaciones y tipos de instrumentos para registrar la información del control del sistema de tratamiento cuando corresponda.
- Describir las obras o infraestructura de descargas de Residuos Líquidos tratados.
- **Requisitos para los Generadores cuyos Residuos Líquidos son tratados por un Tercero**
 - Descripción del tipo y condiciones del transporte desde el establecimiento generador de riles hasta el establecimiento del tercero que los tratará. (Autoridad Sanitaria Regional).
 - Características del (o los) establecimiento(s) de tercero(s) que recibirán sus Residuos Líquidos para tratarlos. Al respecto, debe hacerse presente al titular del proyecto que, el establecimiento que recibirá sus riles deberá contar con un programa de monitoreo de control sancionado mediante resolución SISS y que deberá estar debidamente autorizado de acuerdo con la normativa vigente. (SISS)
 - Asimismo, debe hacerse presente al titular del proyecto que deberá informar a la SISS cada vez que cambie de empresa que tratará sus riles; ello con el objeto de facilitar la función fiscalizadora de la SISS. (SISS)
 - Capacidad del generador de almacenar los residuos líquidos en términos de horas y días de producción. (SISS)

iii. ANTECEDENTES SOBRE EL ÁREA DE INFLUENCIA DEL PROYECTO O LÍNEA BASE

La Autoridad Sanitaria Regional, conforme a sus competencias, requerirá información relativa al área de influencia del proyecto o línea base. La SISS, al no tener competencia en esta materia, no requerirá ninguna información asociada a ella.

- **Recurso agua**

Para identificar las descargas que contempla el proyecto, se deben considerar las siguientes tablas, según corresponda:

Tabla 1 DESCARGAS A CUERPOS FLUVIALES

		Descarga 1	...	Descarga n
<i>Datum de Referencia</i>				
<i>Huso</i>				
Ubicación (Coordenadas UTM)	Norte			
	Este			

<i>Cuenca</i>				
<i>Subcuenca</i>				
Cuerpo receptor de la descarga	<i>Nombre</i> ¹			
	<i>Tipo</i> ²			
	<i>Natural o Artificial</i>			
<i>Otras fuentes emisoras (aguas arriba y aguas abajo)</i> ³	Ubicación en coordenadas UTM			
<i>Recursos ambientales y usos del cuerpo receptor, aguas abajo de la descarga</i> ⁴	Consumo humano (Autoridad Sanitaria Regional)			
	Recreación con contacto directo (Autoridad Sanitaria Regional)			
	Existencia de comunidades acuáticas(SAG-SERNAPECSA)			
	Existencia de ecosistemas húmedos(DGA-SAG)			
	Consumo animal(SAG)			
	Áreas protegidas(CONAF)			
	Zonas con valor paisajístico (CONAF)			
	Acuicultura y pesca (SERNAPECSA-SUBPECSA)			
	Usos productivos y riego (SAG- Autoridad Sanitaria Regional)			

1 Nombre: nombre propio con el cual se identifica el cuerpo receptor (Ejemplos: Loa, Llanquihue, Bio-Bio, etc.)

2 Tipo: Fluvial (ríos, esteros, quebradas, canales, etc.); Lacustre (lagos, lagunas, embalses, etc.); Marino; Subterráneas; Fluvial afluente a un cuerpo de agua lacustre.

3. Deberá indicar el nombre de la Fuente emisora, la ubicación y descripción de su descarga.

4 Se requiere esta información con la finalidad de analizar los efectos, características o circunstancias señalados en el artículo 11 de la ley 19.300.

Tabla 2 DESCARGAS A CUERPOS LACUSTRES

		Descarga 1	...	Descarga n
<i>Datum de Referencia</i>				
<i>Huso</i>				
Ubicación (Coordenadas UTM)	Norte			
	Este			
<i>Cuenca</i>				
<i>Subcuenca</i>				
Cuerpo receptor de la descarga	Nombre ¹			
	Natural o Artificial			
<i>Otras fuentes emisoras al lago³</i>	Ubicación en coordenadas UTM			
<i>Recursos ambientales y usos del cuerpo receptor, aguas abajo de la descarga⁴</i>	Consumo humano (Autoridad Sanitaria Regional)			
	Recreación con contacto directo (Autoridad Sanitaria Regional)			
	Existencia de comunidades acuáticas(SAG- SERNAPECSA)			
	Existencia de ecosistemas húmedos(DGA-SAG)			
	Consumo animal(SAG)			
	Áreas protegidas(CONAF)			
	Zonas con valor paisajístico(CONAF)			

	Acuicultura y pesca(SERNAPESCA-SUBPESCA)			
	Usos productivos y riego(SAG- Autoridad Sanitaria Regional)			

1 Nombre: nombre propio con el cual se identifica el cuerpo receptor (Ejemplos: Loa, Llanquihue, Bio-Bio, etc.)

2 Tipo: Fluvial (ríos, esteros, quebradas, canales, etc.); Lacustre (lagos, lagunas, embalses, etc.); Marino; Subterráneas; Fluvial afluente a un cuerpo de agua lacustre.

3. Deberá indicar el nombre de la Fuente emisora, la ubicación y descripción de su descarga

4 Se requiere esta información con la finalidad de analizar los efectos, características o circunstancias señalados en el artículo 11 de la ley 19.300.

Tabla 3 DESCARGAS A CUERPOS MARINOS

		Descarga 1	...	Descarga n
<i>Datum de Referencia</i>				
<i>Huso</i>				
Ubicación (Coordenadas UTM)	Norte			
	Este			
<i>Zona de protección litoral</i>				

<i>Otras fuentes emisoras en el área de influencia</i> ³	Ubicación en coordenadas UTM			
<i>Recursos ambientales y usos del cuerpo receptor, aguas abajo de la descarga</i> ⁴	Recreación con contacto directo(Autoridad Sanitaria Regional)			
	Existencia de comunidades acuáticas(SAG-SERNAPESCA)			
	Áreas protegidas(CONAF)			
	Zonas con valor paisajístico(CONAF)			
	Acuicultura y pesca(SERNAPESCA-SUBPESCA)			
	Usos productivos(SAG-Autoridad Sanitaria Regional)			

3. Deberá indicar el nombre de la Fuente emisora, la ubicación y descripción de su descarga.

4 Se requiere esta información con la finalidad de analizar los efectos, características o circunstancias señalados en el artículo 11 de la ley 19.300.

Tabla 4 DESCARGAS A ACUIFEROS

		Descarga 1	...	Descarga n
Datum de Referencia				
Huso				
Ubicación (Coordenadas UTM)	Norte			
	Este			
Características del acuífero				
Vulnerabilidad (1)				
Profundidad				
Recargas				

Otras fuentes emisoras en el área de influencia*(2)			
Recursos ambientales y usos del cuerpo receptor (captaciones)			

(1) Conforme lo dispone el DS 46, ésta puede ser alta, media y baja. Indicar n° de solicitud ante al Dirección General de Aguas.

(2) Deberá indicar el nombre de la Fuente emisora, la ubicación y descripción de su descarga.

**Indicar si existen captaciones de agua para consumo humano a 100 m de radio de la descarga, ver efecto en pozos – norias.

iv. **NORMATIVA Y REFERENCIAS TÉCNICAS DE CARÁCTER AMBIENTAL**

- **Parámetros (SISS/Autoridad Sanitaria Regional)**

Las Partes requerirán los parámetros de las normas de emisión que sean aplicables al caso en particular.

Sin embargo, la Autoridad Sanitaria Regional en virtud del artículo 7 del RSEIA, podrá utilizar como referencia las normas de derecho comparado a que se refiere el mismo artículo, para efectos de evaluar si se genera o no presenta el riesgo indicado en la letra a) del artículo 11 de la Ley 19.300.

Sin perjuicio de lo anterior, la Autoridad Sanitaria Regional, una vez ejecutado el proyecto, podrá requerir cualquier parámetro, ya sea establecido en la RCA o no, que signifique un problema sanitario, lo cual deberá estar debidamente fundamentado.

- **Normas de Emisión (SISS)**

Emisiones para Infiltración

Vulnerabilidad del acuífero: Si se aplica el DS N° 46/02, el titular deberá presentar el pronunciamiento de la Dirección General de Aguas (DGA) respecto de la vulnerabilidad del acuífero receptor de su efluente, o en su defecto, la copia de la solicitud ingresada a este organismo.

En caso de contar con el pronunciamiento de la DGA:

Contenido natural del acuífero: Conforme al resultado del pronunciamiento de la DGA, y en el caso que la vulnerabilidad sea alta, el titular deberá presentar adicionalmente el pronunciamiento de la DGA respecto del contenido natural de dicho acuífero.

Límites de emisión: Se deberá indicar la Tabla de los límites de emisión que deberá cumplir el proyecto conforme a la definición de la vulnerabilidad del acuífero.

En caso que no se cuente con el pronunciamiento de la DGA:

La Tabla del DS 46/02 aplicable al caso en concreto estará condicionada al pronunciamiento de la DGA.

Emisiones a Cursos o Masas de Aguas Superficiales

Descargas a cuerpos fluviales: Si se aplica el DS N° 90/00 y el titular desea utilizar la capacidad de dilución deberá presentar el pronunciamiento de la DGA respecto de ella y la calidad natural del cuerpo receptor en el punto en que se realiza la descarga. Para el caso de que no cuente con la resolución de la DGA, deberá asumir como cumplimiento la tabla N° 1.

Descargas cuerpos lacustres: Se aplica la Tabla N° 3 del DS N° 90/00 a las descargas de residuos líquidos que se vierten en forma directa sobre cuerpos de agua lacustres naturales (lago, laguna) como aquellos que se vierten a cuerpos fluviales que sean afluentes de un cuerpo de agua lacustre. Se entiende como cuerpo fluvial afluente de un cuerpo de agua lacustre, al tramo de cuerpo fluvial entre el cuerpo lacustre y la última confluencia con otro cuerpo fluvial antes del cuerpo lacustre.

Descargas a cuerpos de agua marinos: Para descargas al mar se deberá incluir el pronunciamiento de la DIRECTEMAR respecto del ancho de la zona de protección litoral.

Emisiones a Sistemas de Alcantarillado Público

Si la descarga se realiza a la red de un Servicio Público de recolección de aguas servidas en que se aplique el D.S. N° 609/98 del MOP "Norma de Emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a sistemas de alcantarillado", se debe presentar la siguiente información:

- Indicar la tabla del DS N°609/98 MOP que debe cumplir la descarga. En el caso de fuentes nuevas se debe cumplir con la Tabla N°4 de esta norma de emisión.
- Certificado de Factibilidad de la respectiva Empresa Sanitaria.
- Copia del convenio de acuerdo a lo que establece el punto 4.4 del D.S. MOP N°609/98, si el titular desea convenir con la Empresa Sanitaria los excesos de carga orgánica para su descarga al alcantarillado.

Emisiones Directas a Infraestructura Sanitaria.

El titular debe acreditar, mediante el instrumento legal respectivo, la aceptación de la empresa Sanitaria de recepcionar los RILES correspondientes.

Adicionalmente, si el titular desea convenir con la Empresa Sanitaria los excesos de carga orgánica para su descarga al alcantarillado, deberá adjuntar copia del convenio de acuerdo a lo que establece el punto 4.4 del D.S. MOP N°609/98.

La descarga deberá cumplir con la Tabla N° 4 del D.S. N° 609/98 del MOP. Además la empresa concesionaria deberá dar cumplimiento a todas las condiciones establecidas en

Of. SISS N°2054, del 19 de noviembre de 2003. Siendo las principales condiciones las siguientes; i) La PTAS receptora deberá disponer de una RCA que considere esta alternativa de tratamiento; ii) La PTAS deberá estar autorizada por la SISS para aplicación por cargo tarifario por entrega de servicio de tratamiento, y encontrarse obligada al cumplimiento del D.S. N°90/00.

Si no es posible acreditar lo anterior, contemplar el caso que la concesionaria no pueda tratar ni disponer los Riles del titular.

Tratamiento de Residuos Líquidos por un Tercero

El generador deberá contar con una Autorización Sanitaria para tratar o disponer sus residuos fuera del predio industrial, según lo disponga el D.S 594/00 Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los Lugares de Trabajo.

El titular debe informar a la SISS y la Autoridad Sanitaria Regional cada vez que cambie la empresa que tratará sus Riles.

Al respecto, el establecimiento que recibirá los Riles deberá contar con una RCA.

- **Normas de calidad (Autoridad Sanitaria Regional)**

Adicionalmente, se deben tener presente las normas de calidad de aguas superficiales, tanto continentales como marinas, según corresponda.

v. PERMISOS AMBIENTALES SECTORIALES (PAS) (Autoridad Sanitaria Regional)

- **Permiso Ambiental Sectorial del Artículo 90 del RSEIA.**

La Autoridad Sanitaria Regional no exigirá el PAS del Art. 90 del RSEIA para los proyectos relativos a la construcción, reparación, modificación y ampliación de cualquier obra pública o particular destinada a la evaluación, tratamiento o disposición final de residuos industriales.

Sin perjuicio de lo anterior, la Autoridad Sanitaria Regional siempre dará su opinión respecto a los literales f) y g) del artículo 90 del RSEIA.

vi. PROGRAMA DE MONITOREO

- **Monitoreo calidad del efluente (SISS)**

- El programa de monitoreo debe considerar como mínimo lo que a continuación se presenta, para cada una de las descargas de que disponga el establecimiento industrial:
 - Punto de monitoreo (se deberá indicar si existe una cámara de muestreo y la localización de Coordenadas UTM con datum y Huso de referencia.)

- Parámetros a monitorear durante la operación del proyecto (normados y no normados)
- El tipo de muestra a considerar
- Frecuencia mínima de monitoreo
- Se debe especificar en la RCA que el titular deberá avisar a la Superintendencia de Servicios Sanitarios con 90 días de anticipación, el inicio de la operación de su sistema de tratamiento de Riles, de acuerdo al formato de aviso que se encuentra en la página web www.siss.cl de modo que dicho organismo dicte una Resolución de Monitoreo, si corresponde.
- Se debe especificar en la RCA que los informes de autocontrol deberán ser informados a esta Superintendencia, y deberán apegarse estrictamente a la frecuencia y al formato que se señale en la citada Resolución de Monitoreo.
- **Monitoreo calidad del curso o masas de agua (Autoridad Sanitaria Regional)**

Quando el sistema de tratamiento contemple lagunas u otros depósitos para los efluentes, tratados o sin tratar, la Autoridad Sanitaria Regional podrá requerir monitoreos de calidad de agua subterránea para verificar que el almacenamiento no está impactando en la calidad de las aguas subterráneas y sus actuales o potenciales usos.

vii. **MEDIDAS DE CONTINGENCIA (SISS)**

El titular debe describir el plan de medidas de contingencia e instalaciones de seguridad o respaldo ante situaciones de emergencias, tales como:

- Período de Puesta en Marcha del sistema de tratamiento, el titular debe indicar su duración, la capacidad de almacenamiento y de recirculación. Para ello, se debe proponer un programa de monitoreo, tanto del efluente como del cuerpo receptor.
- Cortes de energía.
- Superación de la capacidad de los depósitos de almacenamiento de riles

En cuanto a las **Descargas de Emergencia** las Partes no permitirán descargas de emergencia, salvo situaciones de excepción que deben ser resueltas en la mesa técnica permanente.

B. PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS (PTAS)

i. COMPETENCIA

La SISS participa en el SEIA como un organismo con competencia ambiental sectorial en la evaluación de impacto ambiental de proyectos de PTAS, al ejercer funciones fiscalizadoras respecto de las normas de emisión, el DS N° 90/00, el DS N° 46/02, del MINSEGPRES y el DS N° 609/98 del MOP. Por tanto, los requerimientos de la SISS para este tipo de proyectos van estar siempre vinculados a la verificación del cumplimiento de esta normativa ambiental.

Por su parte, la Autoridad Sanitaria Regional actúa como organismo con competencia ambiental sectorial en el SEIA, al tener facultades fiscalizadoras en las normas de emisiones antes indicadas, y por emitir pronunciamientos respecto del Permiso Ambiental Sectorial (PAS) del artículo 91 y 93 del RSEIA, que tienen como objetivo la protección de la salud de la población. En este contexto, el MINSAL actúa como organismo rector del sector salud, y como tal se encuentra facultado para dictar las normas e instruir respecto de la aplicación de las mismas.

Los Acuerdos de las Partes en esta materia no alteran estas competencias, pero se delimitan conforme lo que se pasa a exponer.

ii. DESCRIPCIÓN DE PROYECTO

- **Descripción del sistema de recolección y/o tratamiento** y verificación de su consistencia con lo considerado en el Plan de Desarrollo, si corresponde (territorio operacional, n° de usuarios, n° de descargas, plantas elevadoras de aguas servidas, etc). **(SISS)**
- **Emplazamiento: (Autoridad Sanitaria Regional)**
 - Plano de localización del área de recolección y/o de la planta de tratamiento, a escala adecuada.
 - Plano de emplazamiento de la planta de tratamiento a escala adecuada con indicación del Norte, en el que se señale los accidentes geográficos cercanos importantes, vías de acceso, etc.
- **Generación de aguas servidas (SISS)**
 - Población residencial, su carga orgánica y caudales considerados para el diseño del proyecto.
 - Se debe señalar si se considera fracciones de aguas lluvias y/o infiltración, indicando los criterios de diseño en cada caso.
 - Caudales medios y máximos de diseño.

Para acreditar estas declaraciones, el titular deberá acompañar los respaldos teóricos y de monitoreo que sean pertinentes. La SISS presentará una propuesta de los tipos de respaldo posibles para acreditar esta exigencia, a la Mesa Técnica de "Uso de By pass y seguimiento".

- **Características físico-químicas de las Aguas Servidas (SISS)**
- **Catastro de industrias generadoras de riles dentro y fuera del territorio operacional (TO)**, cuyas descargas serán conducidas a la PTAS. (SISS). Para el caso de los Establecimientos Industriales (EI) ubicados dentro del TO, se deberá incluir, para cada establecimiento industrial, nombre, dirección, CIU asociado a generación de riles, caudal medio anual y carga orgánica media diaria (incluyendo industrias en convenio).

En el caso que la concesionaria sanitaria opte por recibir Riles fuera del área de concesión, esto lo deberá declarar explícitamente, para lo cual será necesario que entregue, como mínimo, la siguiente información:

- Volumen y carga orgánica máxima de Riles a recibir en la PTAS.

- Posibles puntos o modalidades, para la recepción y/o vertimiento de Riles, tanto en el sistema de recolección como directamente en la PTAS.
- **Descripción de la PTAS (SISS)**
 - Descripción del sistema de tratamiento que se proponga adoptar, indicando los procesos considerados y sus respectivas eficiencias.
 - Diagrama de flujo y planos generales de la planta de tratamiento y de todas las unidades involucradas, indicando elementos tanto del tratamiento mismo, incluyendo plantas elevadoras de aguas servidas, cámaras de muestreo, etc; elementos accesorios, como, sistema electrógeno; e instalaciones anexas como laboratorio, casino, etc.
 - Si la disposición final del efluente tratado es mediante emisario submarino fuera de la zona de protección litoral, se deberá incluir dispositivos de desbaste de sólidos finos con paso no superior a 0.6 cm, automatizado.
 - Si el sistema de tratamiento que se adopte contempla lagunas u otros depósitos de los efluentes, tratados o sin tratar, se deberá incluir información del sistema de impermeabilización de estos depósitos.
 - Descripción del sistema de tratamiento de olores, si corresponde.
 - Forma de Registro y Control de las variables operacionales.
- **Generación y manejo de lodos (Autoridad Sanitaria Regional /SISS)**
 - Estimación de volumen de lodos generados en cada una de las etapas de tratamiento, caracterización físico química y humedad.
 - Tipo de tratamiento de lodos, unidades involucradas, diagrama de flujo.
 - Programa de control de lodos.
 - Lugar de disposición de los lodos.
 - En caso de disponer en mono relleno de la misma empresa se deberá proporcionar la siguiente información:
 - Descripción del mono relleno.
 - Parámetros de diseño (volúmenes considerados, superficie, sistema de recolección de líquidos percolados, colectores de aguas lluvias).
 - Características del sistema de impermeabilización de la superficie base.
 - En caso de disposición de rellenos sanitarios, se deberá proporcionar la siguiente información:
 - Relación másica de los residuos sólidos urbanos y lodos.
 - Características y frecuencia del transporte

- **Disposición en riego (Autoridad Sanitaria Regional)**
 - La Autoridad Sanitaria Regional intervendrá en la evaluación de este aspecto del proyecto conforme a lo dispuesto en el Código Sanitario (Art. 73 y 75) y el DS N°1775/95 MINSAL, que regula la aplicación del artículo 75 del Código Sanitario.

iii. LÍNEA DE BASE O ÁREA DE INFLUENCIA DEL PROYECTO.

- **Recurso Aire (Autoridad Sanitaria Regional)**

Se requerirán los siguientes antecedentes respecto del emplazamiento y su relación con la generación de olores de la PTAS:

- Ubicación de la población
- Rosa de vientos

- **Recurso agua (Autoridad Sanitaria Regional)¹**

iv. NORMATIVA Y REFERENCIAS DE CARÁCTER TÉCNICO AMBIENTAL

- **Parámetros (Autoridad Sanitaria Regional /SISS)**

A las descargas de aguas residuales de los servicios públicos sanitarios a cuerpos de agua continentales, se les exigirán los parámetros característicos de las aguas servidas domésticas (Aceites y Grasas, Sólidos Suspendidos Totales, DBO5, Coliformes Fecales, Nitrógeno Total Kjeldahl, Fósforo y Poder Espumógeno).

No obstante, en casos calificados, existiendo razones fundadas para la protección de los cuerpos receptores, se podrán exigir parámetros adicionales, previa consulta y análisis del MINSAL y la SISS, a nivel central en mesa técnica.

- **Normas de emisión**

Emisiones para infiltración (SISS)

Vulnerabilidad del acuífero: Si se aplica el DS 46/02, el titular deberá presentar copia de la solicitud del pronunciamiento de la Dirección General de Aguas (DGA) respecto de la vulnerabilidad del acuífero receptor de su efluente.

Contenido natural del acuífero: En caso de contar con el pronunciamiento de la DGA y en caso que la vulnerabilidad sea alta, el titular deberá presentar adicionalmente el pronunciamiento de la DGA respecto del contenido natural de dicho acuífero.

Límites de emisión: Se deberá indicar Tabla de los límites de emisión que deberá cumplir el proyecto conforme a la definición de la vulnerabilidad del acuífero.

Emisiones a cursos o masas de agua superficiales (SISS)

¹ Se entienden incorporadas las tablas adjuntadas para proyectos que generan Riles.

Descargas a cuerpos fluviales: Si se aplica el DS 90/00, para proyectos de PTAS el titular deberá solicitar siempre la capacidad de dilución del cuerpo receptor en el punto en que se realiza la descarga. Para lo anterior, el titular deberá presentar esta solicitud a la DGA, independiente de su utilización posterior.

Para el caso de que la DGA, no otorgue capacidad de dilución al cuerpo receptor, se dará cumplimiento los valores límites de la tabla N° 1.

Se entiende como cuerpo fluvial afluente de un cuerpo de agua lacustre, al tramo de cuerpo fluvial entre el cuerpo lacustre y la última confluencia con otro cuerpo fluvial antes del cuerpo lacustre.

Descargas a cuerpos de agua marinos: Para descargas al mar se deberá incluir el pronunciamiento de la DIRECTEMAR respecto del ancho de la zona de protección litoral.

Normas de calidad (*Autoridad Sanitaria Regional*)

Adicionalmente, se deben tener presente las normas de calidad de aguas superficiales, tanto continentales como marinas, según corresponda.

v. PERMISOS AMBIENTALES SECTORIALES DE LOS ARTS 91 y 93 DEL RSEIA (*Autoridad Sanitaria Regional*)

La Autoridad Sanitaria Regional se compromete a interpretar estos artículos al tenor del RSEIA, esto es, las observaciones y exigencias de la Autoridad Sanitaria, en el marco de estos permisos, deben tener como objetivo la protección de la salud de la población y de acuerdo a lo especificado en el presente convenio.

vi. PROGRAMA DE MONITOREO. (SISS)

El programa de monitoreo de control del funcionamiento del sistema de tratamiento deberá incluir el control de las variables operacionales, parámetros, puntos de muestreo, tipos de muestras y frecuencias según Oficio SISS N° 1056, de 19 de junio de 2003.

- Punto de monitoreo
- Cámara de muestreo del efluente tratado, ubicada al exterior del recinto (cuando sea posible), de fácil y público acceso. (se deberá indicar la localización en Coordenadas UTM con datum y Huso de referencia)
- El tipo de muestra a considerar.
- Frecuencia mínima de monitoreo.
- Instalaciones y tipos de instrumentos que utilizará el titular para registrar la información del monitoreo de control del sistema de tratamiento, incluyendo medición y registro continuo de caudal.

vii. MEDIDAS DE CONTINGENCIA

- **Recursos para la Operación de la PTAS**

Las Partes generarán una propuesta en la mesa técnica.

- **Plan de Medidas de Contingencias**

- Descripción del plan de medidas de contingencia e instalaciones de seguridad o respaldo ante situaciones de emergencias, indicando acciones que se adoptarán, los responsables y plazos a ejecutar.
- Existencia de grupos generadores de respaldo con la capacidad necesaria para el funcionamiento de los sistemas de tratamiento en condiciones de emergencia, y de plantas elevadoras según exigencias de NCh 2472.

- **Uso de By Pass**

- Las Partes reconocen la necesidad de la existencia del By-pass en la infraestructura de la PTAS.
- Se tipifican los casos de uso de by-pass:
 - **Caso Fortuito o Fuerza Mayor:** Entendiendo por éstos los sucesos que provoquen daños en la infraestructura sanitaria y que requieran la operación de una descarga de emergencia, siempre y cuando estos sucesos escapen al control o responsabilidad del operador del sistema sanitario. Ejemplos de lo anterior, son los siguientes:
 - Inundaciones y crecidas extraordinarias (que constituyan fuerza mayor.)
 - Terremotos
 - Actividades humanas externas no relacionadas con el servicio (trabajo de maquinaria pesada no relacionada con la concesionaria, accidentes, explosiones, robos, actos terroristas, etc.)
 - Descarga puntual y no autorizada de Riles. Para este caso, la empresa debe demostrar cuantitativamente que el problema que origina el uso de la descarga de emergencia, efectivamente lo constituye las descargas clandestinas de Riles (ej: monitoreo en línea del afluente)
 - **Otros casos calificados:** Aguas lluvias provenientes de colectores unitarios y separados; mantención programada de la PTAS.
- La Partes se comprometen a desarrollar criterios para delimitar el uso del by-pass y generar un sistema de seguimiento de su uso. Para ello, la SISS presentará una Propuesta a la mesa técnica que se formará para tales efectos.

viii. MEDIDAS DE MITIGACIÓN

La SISS presentará los resultados del Estudio "Revisión del Estado del Arte en materia de olores y PTAS " y una Propuesta de Criterios de Evaluación y Fiscalización en esta materia a la Mesa Técnica que se formará para tales efectos.

viii. EXIGENCIAS EXTRA-SEIA

Las Partes se comprometen a que todos los requerimientos solicitados a las PTAS de las concesionarias sanitarias fuera del contexto del SEIA, que sean permanentes y que involucren gastos no programados, tales como respaldos de equipos, productos químicos no contemplados en el tratamiento de aguas residuales, etc., serán evaluados por las Partes en la Mesa Técnica Permanente.

6.3. FISCALIZACIÓN

A. RILES

i. COMPETENCIAS

La SISS será el Organismo encargado del control y fiscalización de los Establecimientos Industriales (EI) que descargan Riles.

La Autoridad Sanitaria Regional será el Organismo encargados del control y fiscalización de las Actividades Económicas que califican como Simple Actividades Económicas, para lo cual el MINSAL deberá generar un Procedimiento que permita un seguimiento sistemático de dichas actividades y además entregue herramientas que permitan a las Partes ser pro-activos cuando dichas actividades modifican su calificación, sin informar a la autoridad oportunamente.

ii. CRITERIOS DE FISCALIZACIÓN

Para efectos de priorizar la fiscalización, las Partes deberán tener en consideración los siguientes criterios para la evaluación del riesgo ambiental asociado a una determinada industria por vertimiento de Riles:

- **Riesgo de Contaminación Alta (CA):** Efluentes que constituyen un alto riesgo a la salud de la población, tal como la descarga aguas arriba de una captación de agua potable, y un deterioro significativo a los recursos naturales o que esas descargas generen un foco de insalubridad, atracción de vectores y/u olores molestos.
- **Riesgo de Contaminación Media (CM):** Efluentes que afectan indirectamente la salud de la población, como es la descarga a un curso de agua superficial afectando un uso posterior distinto a la captación de agua potable, tales como: riego, agua para uso recreacional de contacto directo, otros. Es decir, efluentes que constituyan un mediano riesgo a la salud de la población y un deterioro moderado a los recursos naturales.

- **Riesgo de Contaminación Baja (CB):** Efluentes que constituyan un bajo riesgo a la salud de la población y un deterioro leve a los recursos naturales.

El MINSAL generará los indicadores para evaluar estos tipos de riesgo.

iii. PROCEDIMIENTOS DE FISCALIZACIÓN

El proceso de fiscalización de Riles que son vertidos ya sea en alcantarillado (Norma N° 609/98) o en cursos o masas de agua superficial y/o subterránea (Norma N° 90/00 y N° 46/02, respectivamente), se lleva a efecto bajo dos ámbitos de acción:

- **El con Resolución de Monitoreo (RM):** La fiscalización de los EI con RM en cuanto a la calidad del efluente es competencia de la SISS. Dicho proceso se realiza bajo un procedimiento estandarizado de fiscalización.

En el caso de los EI que aún no cuenten con Resolución de Monitoreo se aplicarán los siguientes criterios:

1. Calificación de la AE:

Las Calificación de la AE se deberá ejecutar de acuerdo con el procedimiento establecido en la Resolución 1442 del 02.06.04.

El referido procedimiento deberá ser requerido sólo en aquellos casos en que los antecedentes disponibles (información de la AE, monitoreos, etc.) no permitan determinar si la Carga Contaminante Media Diaria (CCMD) de los residuos líquidos a evacuar por actividades económicas, tales como pequeñas y medianas industrias, talleres artesanales u otras, es superior o inferior en uno o más parámetros, a la CCMD de las aguas servidas equivalente a 100 habitantes conforme a lo establecido en las norma respectiva.

2. Presentación del proyecto al SEIA

Si corresponde, las actividades que requieran de la implementación de una planta de tratamiento de Riles o el mejoramiento de la ya existente, deberán someterse al SEIA, sin perjuicio de las normativas sectoriales exigibles.

Este tipo de fiscalización se llevará a cabo hasta que el DS N°90/00 MINSEGPRES y el DS N°46/02 MINSEGPPRES sean completamente exigibles.

- **El que no requieren Resolución de Monitoreo.** La SISS fiscalizará a este tipo EI, a través de autocontroles.

En aquellos casos en que la disposición del Ril sea en riego, el procedimiento a seguir es el siguiente:

- Si se trata de industrias vitivinícolas y suscritas al APL del sector, la SISS dictará la Resolución de Monitoreo respectiva, y su fiscalización se realizará de acuerdo a los procedimientos establecidos por este organismo.
- Si se trata de planteles de cerdo suscritos al APL del sector, será el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) el organismo encargado de su fiscalización.

- En los demás casos, la fiscalización será de cargo de la Autoridad Sanitaria Regional en el marco de sus competencias. Sólo en caso de denuncia, la SISS fiscalizará estos proyectos, conforme lo dispone el artículo 11C de la Ley 18902, sin perjuicio de ello, el titular deberá dar aviso previo a la Superintendencia del inicio de su descarga mediante riego.

Lo anterior, es sin perjuicio, de la competencia de los demás organismos con competencia ambiental en la materia.

iv. DENUNCIAS

Las denuncias por olores molestos o presencia de vectores sanitarios generados por un mal manejo y/o disposición de Riles, serán fiscalizadas en forma conjunta por ambos Servicios, para lo cual se generará un procedimiento de comunicación expedita.

En los lugares que no existan Oficinas Regionales SISS, la Autoridad Sanitaria Regional llevará a cabo el procedimiento de inspección y remitirá el Acta de ella a la SISS.

En caso que, el origen del problema sea la inadecuada operación de la Planta de Riles que genere incumplimiento de la norma de emisión aplicable a la calidad del efluente, será la SISS la que iniciará un proceso de sanción y/o instruirá al fiscalizado para que adopte las medidas pertinentes para la solución definitiva al problema en un plazo perentorio. Si el origen del problema es un mal manejo de los residuos sólidos y/o de los lodos generados o por otra causa, en la planta de tratamiento de Riles, corresponderá a la Autoridad Sanitaria establecer dichas acciones.

v. INFORMACIÓN

El manejo de la información respecto del catastro de Riles a fiscalizar a nivel nacional será de responsabilidad de la SISS.

B. PTAS

i. COMPETENCIA

La SISS será la única autoridad que fiscalizará, permanentemente, la calidad del efluente de las PTAS de las concesionarias sanitarias. Lo anterior, es sin perjuicio de la fiscalización del Autoridad Sanitaria Regional en las demás materias ambientales que son de su competencia.

En el caso de denuncias en contra de estas PTAS, cualquiera sea su causa, la Autoridad Sanitaria Regional y la SISS, actuarán conjuntamente.

ii. LODOS DE PTAS

El MINSAL invitará a la SISS a formar una mesa técnica intersectorial para la generación de un Manual de Aplicación del futuro Reglamento para el Manejo de Lodos generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas.

iii. OLORES DE PTAS

Las Partes se comprometen a generar un procedimiento de fiscalización para eventos de olores en PTAS, que será desarrollado en la Mesa Técnica antes indicada. Para ello, la SISS presentará una Propuesta de Criterios de fiscalización y evaluación².

iv. VERTEDEROS DE TORMENTA Y COLECTORES UNITARIOS

- Se tipifican las causales de uso del by-pass: Fuerza mayor o caso fortuito; lluvias intensas y mantención programada de las PTAS. Estas causales serán desarrolladas por las Partes en la Mesa Técnica que se formará para tales efectos.
- Las Partes se comprometen a desarrollar un procedimiento de fiscalización para uso del By-Pass. Para ello, la SISS presentará una propuesta a la Mesa Técnica antes indicada.
- Las Partes se comprometen a sancionar el uso indebido del by-pass, conforme al procedimiento antes señalado.
- Las Partes se comprometen a desarrollar un procedimiento de fiscalización de la contribución de aguas lluvias de fuentes domiciliarias a las redes de alcantarillados.

v. FLUJOS DE INFORMACIÓN

- Las Partes se comprometen a generar criterios y flujos de información para adoptar medidas administrativas (Ej.: Suspensión de cobro tarifario). En este marco se acuerda lo siguiente:
 - La SISS enviará copia de las Resoluciones de Inicio de Procedimientos Sancionatorios al MINSAL.
 - MINSAL/SISS generará un sistema de captura de denuncias cuya propuesta será presentada a la Mesa Técnica Permanente.
- Con motivo de los Estudios de Valorización de Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas en los procesos tarifarios, el MINSAL proporcionará todos los antecedentes que sean necesarios para contribuir con este objetivo. Asimismo, la SISS estará dispuesta a presentar los antecedentes disponibles de las concesiones sanitarias de la región.

² Esta propuesta se basará en el Estudio "Revisión del Estado del Arte de PTAS y Eventos de olores", que será licitado por la SISS y cuyos resultados se esperan para Diciembre de 2005.

6.4. TEMAS TRANSVERSALES

A. TEMAS NORMATIVOS

- El MINSAL se compromete a revisar el Título II, "DEL SANEAMIENTO BASICO DE LOS LUGARES DE TRABAJO", del DS 594/00 del MINSAL, a fin de coordinar y delimitar las competencias de los distintos organismos en materia de residuos.
- EL MINSAL se compromete a dictar las instrucciones que correspondan a fin de recoger el contenido de la Resolución N° 5081 del SESMA, que establece Sistema de Declaración y Seguimiento de Desechos Sólidos, a los Residuos Líquidos Industriales.

B. PROYECTOS PARTICULARES DE RECOLECCIÓN, TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE AGUAS SERVIDAS

- Estos proyectos serán autorizados y fiscalizados por la Autoridad Sanitaria Regional.
- Las Partes acuerdan prohibir el tratamiento de Riles en PTAS particulares. El MINSAL generará el instrumento legal para hacer efectiva esta prohibición.
- Las Partes se comprometen a implementar el Acuerdo Intersectorial "Sistemas de Agua Potable y Aguas Servidas que Abarcan Grandes Cantidades de Población Ubicados en Zonas Rurales, Urbanizables y Zonas de Desarrollo Controlado", aprobado mediante el Oficio SISS N° 1394, de 8 de Agosto de 2004; y el Oficio Ord N°B 5067, de 23 de octubre de 2004, del SESMA.

No obstante lo anterior, las Partes especifican las siguientes materias de este Acuerdo:

- Las Partes aceptarán Proyectos de PTAS particulares sólo en el ámbito rural.
- La Superintendencia fiscalizará que todos los proyectos que se desarrollen en áreas urbanas cuenten con sistemas públicos para su saneamiento, salvo excepciones que se tipificarán en la Mesa Técnica.
- Todos los proyectos de saneamiento de gran magnitud (> 2500 habitantes) al corresponder a servicios de carácter público, requieren de concesión sanitaria y son de competencia, en cuanto a su fiscalización, de la SISS. Lo anterior, se aplica a proyectos emplazados en las Zonas de Desarrollo Controlado y en el caso contemplado en el artículo 55 de la LGUC, cuando el proyecto genere nuevos núcleos urbanos.
- En la aprobación y autorización de servicios particulares de agua potable y aguas servidas, las Autoridades Sanitarias Regionales, no los autorizaran si no se acreditan los derechos de agua y la autorización a descargas de cursos superficiales por los propietarios correspondientes. En el caso que el proyecto ingrese al SEIA, se explicitarán estas exigencias en la RCA.

C. OBLIGATORIEDAD DE CONEXIÓN A LAS REDES PÚBLICAS DE ALCANTARILLADO (ARTÍCULO 39 DFL 382/88 MOP)

- Las Partes se comprometen a coordinar sus labores de fiscalización para hacer cumplir la obligatoriedad de conexión a que se refiere el artículo 39 del DFL 382/88 MOP
- Las PARTES se comprometen a desarrollar políticas orientadas a promover la conexión de los usuarios a los sistemas de alcantarillado público. En el marco de esta coordinación, las Partes llevarán a cabo las siguientes acciones:
 - La SISS instruirá a las Concesionarias Sanitarias para que levanten información sobre los sistemas particulares de tratamiento de aguas servidas que se encuentren dentro del área de la concesión y por tanto, tengan la obligación de conectarse.
 - La Autoridad Sanitaria Regional fiscalizará lo anterior en base a la información proporcionada por la SISS.
 - La SISS se compromete a enviar al MINSAL información relativa a la cobertura de las concesionarias.