UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

RENATO IGOR DA SILVA ALVES

Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na
Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde
humana e análise multivariada

Ribeirão Preto

2013

RENATO IGOR DA SILVA ALVES

**Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na
Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde
humana e análise multivariada**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Programa de Pós Graduação em
Enfermagem em Saúde Pública.

Linha de Pesquisa: Saúde Ambiental

Orientador: Susana Inés Segura-Muñoz

Ribeirão Preto

2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação
Serviço de Documentação da Enfermagem
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Alves, Renato Igor da Silva

“Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde humana e análise multivariada”/ Renato Igor da Silva Alves; orientadora Susana Inés Segura Muñoz.-- Ribeirão Preto, 2013.
133f.

Tese (Doutorado – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Enfermagem em Saúde Pública).

1. Água superficial.
2. Sedimentos.
3. Limnologia.
4. Metais.
5. Avaliação de Risco.
6. Coliformes.
7. Parasitas.
7. Análise Multivariada.
8. Saúde Ambiental.
9. Rio Pardo.

ALVES, Renato Igor da Silva

**Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na Bacia Hidrográfica do Pardo:
Avaliação de risco à saúde humana e análise multivariada**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências,
Programa de Pós-Graduação em Enfermagem em
Saúde Pública

Aprovado em//

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Às minhas queridas avós: Edith e Luzia (in memorian).

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida;

À Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP-USP), pela oportunidade;

Aos meus pais, Francisco e Lúcia, e irmãos, Patrícia e Vitor, pelo amor, apoio e confiança. Só tenho a agradecer por fazer parte dessa família;

À minha orientadora (“chefe”) Profa. Dra. Susana Inés Segura-Muñoz, por mais uma vez ter acreditado e ensinado, além da amizade e paciência. Muito obrigado! Considero-me uma pessoa com muita sorte por tê-la presente durante minha trajetória acadêmica;

Aos colegas e amigos que tanto me ajudaram durante a realização do projeto: Carol, Brisa, Cássio, Meire, Maraína, Mariana, Karina, Fabiana e Osmar;

Às Professoras Doutoras Angela Magosso Takayanagui e Cristina Paschoalato, pelas contribuições no Exame de Qualificação;

A todos do Laboratório de Saúde Ambiental, pelo carinho e apoio;

Aos amigos Doutores Larissa Elias (Nóia) e Joaquim Rovira (Quim), pela ajuda durante as análises dos dados;

À Shirley Ferreira de Figueiredo, pelo bom humor, apoio e paciência em todos os momentos;

À minha tia Téu e ao meu tio Júlio, pessoas com quem sempre posso contar;

Aos amigos, em especial aos moradores do Lab, Kremutcho e Vaktolada, e à galera do MilliUni;

Aos funcionários e alunos do grupo *TecnATox da Universidad Rovira i Virgili*, Espanha;

Aos Professores Doutores Josep Lluís Domingo, Martí Nadal e Marta Schuhmacher, pela oportunidade e apoio durante minha experiência no exterior;

À minha querida, paciente, linda, companheira, namorada e amada Marília (Mah), a pessoa que me faz querer ser um homem melhor a cada dia. Ela foi uma das maravilhas que o período de pós-graduação me trouxe;

Á todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram da elaboração e realização dessa pesquisa;

Muito Obrigado!

EPÍGRAFE

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, ria, dance, chore e viva intensamente cada momento de sua vida, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos.”

Charles Chaplin

RESUMO

ALVES, R. I. S. **Parâmetros limnológicos, metais e bioagentes patogênicos na Bacia Hidrográfica do Pardo: Avaliação de risco à saúde humana e análise multivariada.** 2013. 133f. Tese (doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade da água superficial e sedimento do Rio Pardo, considerando a sazonalidade e as relações entre diferentes parâmetros, e estimar o risco à saúde humana derivado da exposição aos metais. A leitura dos parâmetros limnológicos foi realizada no momento da coleta (*in situ*). Os metais em água superficial e sedimento foram analisados por Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido. A análise parasitológica foi realizada pelo método de sedimentação espontânea, e para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foi utilizado o Método *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA* (USEPA 1623). Já a quantificação bacteriana foi realizada por meio da técnica dos Tubos Múltiplos com Substrato Cromogênico. Para a avaliação de risco à saúde humana pela exposição aos metais presentes na água superficial foi considerado um cenário domiciliar, de acordo com o *United States Department of Energy* (USDOE) e a *United States Environmental Protection Agency* (USEPA). As técnicas foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto / USP, e no *Laboratório de Salud Medio Ambiental y Toxicología da Universidad Rovira i Virgili*, Espanha. Alguns parâmetros limnológicos (pH e Oxigênio Dissolvido) apresentaram valores acima dos estabelecidos pela Resolução CONAMA N° 357/2005, assim como a avaliação bacteriológica. A análise parasitológica mostrou a presença de *Entamoeba coli*, *Hymenolepis diminuta*, *Strongyloides stercoralis*, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Em comparação aos padrões de qualidade estabelecidos pelo CONAMA N° 357/2005, as concentrações dos metais analisados na água superficial estão em conformidade com a legislação brasileira. Os resultados das análises dos sedimentos mostraram que todos os metais apresentaram as médias das concentrações de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA N° 344/2004, embora Cu e Cr tenham apresentado, em alguns pontos de coleta, concentrações superiores às estabelecidas para o nível 1. A avaliação de risco para a saúde humana derivada da exposição aos metais indicou que a água do Rio Pardo pode apresentar risco para elementos não carcinogênicos (As, Cd, Cr IV, Cu, Mn, Ni, Tl, Sn, V and Zn), enquanto que os valores para os elementos carcinogênicos (As) estão de acordo com os riscos aceitáveis. PCA e HCA foram aplicadas permitindo identificar variações espaciais e sazonais causadas por fatores naturais e antropogênicos, além das associações entre as variáveis. Os resultados sugerem que a qualidade das águas e sedimento do Rio Pardo é afetada por fatores naturais e antropogênicos, incluindo a estrutura geológica, mineralogia, precipitação e escoamento superficial, assim como crescimento dos espaços urbanos com consequente aumento da população e incremento de processos de industrialização regional. Há uma clara tendência de crescimento da população nas proximidades do Rio Pardo, bem como das atividades econômicas, com consequentes impactos sobre os recursos hídricos. Frente a essa realidade, que estabelece um aumento na demanda de fontes de água para consumo da população, tem-se como possibilidade estratégica para o futuro o uso desse corpo d'água para o abastecimento público de Ribeirão Preto e de outros municípios banhados pelo Rio Pardo, o que evidencia a importância deste estudo.

Palavras-chave: Água superficial. Sedimentos. Limnologia. Metais. Avaliação de Risco. Coliformes. Parasitas. Análise Multivariada. Saúde Ambiental. Rio Pardo.

ABSTRACT

ALVES, R. I. S. **Limnological parameters, metals and pathogenic bioagents in the Pardo River Basin: Risk assessment to human health and multivariate analysis.** 2013. 133f. Tese (doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

The aim of the study was assess the quality of surface water and sediment of Pardo River, taking into account the seasonality and the relation among different parameters, and estimate the risk assessment to human health derived from exposure to metals. All measurements of limnological parameters were performed at the sampling time (*in situ*). Metals in surface water and sediment were analyzed by inductively coupled plasma spectrometry. The parasitological analysis was performed by the sedimentation method, and *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. by *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA* (USEPA 1623). Bacterial quantifications were carried out using the multiple tube technique with a defined substrate. The risk assessment to human health from exposure to metals was assessed under a residential scenario according to the United States Department of Energy (USDOE) and United States Environmental Protection Agency (USEPA). The techniques were performed at the Laboratory of Ecotoxicology and Environmental Parasitology (LEPA) at the Ribeirão Preto College of Nursing in the University of São Paulo (USP), and the metals analysis at the *Laboratorio de Salud Medio Ambiental y Toxicología* of the *Universidad Rovira i Virgili*, Spain. Dissolved oxygen and pH showed higher values than those set by CONAMA Resolution N° 357/2005, as well as bacteriological evaluation. The parasitological analysis showed the presence of *Entamoeba coli*, *Strongyloides stercoralis*, *Hymenolepis diminuta*, *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. The levels of analyzed metals in surface water are in accordance to the Brazilian legislation (CONAMA N° 357/2005). The results of sediments showed that all the metals had mean concentrations in accordance to brazilian legislation, but Cu and Cr presented in some points higher levels than those set by CONAMA N° 344/2004 for level 1. The risk assessment to human health derived from exposure to metals indicated that the Pardo River can be a pathway of concern for human exposures to metals for non-carcinogens elements (As, Cd, Cr IV, Cu, Mn, Ni, Tl, Sn, V and Zn), while the values for carcinogenic (As) elements were in accordance to acceptable lifetime risks. PCA and HCA were applied in order to identify spatial and seasonal variations caused by natural and anthropogenic factors, in addition to associations among variables. The results suggest the quality of water and sediment from the Pardo River is affected by natural and anthropogenic factors, including the geology, mineralogy, rainfall and runoff, as well as growth of urban areas with a consequent population increases and industrialization processes. There is a clear trend of population and economic activities growth in the Pardo River area that makes the water of the Pardo River a strategic alternative for the future supply, which highlights the importance of this study.

Keywords: Surface Water, Sediments, Limnology, Metals, Risk Assessment, Coliforms, Parasites, Multivariate Analysis, Environmental Health, Pardo River.

RESUMEN

ALVES, R. I. S. **Parámetros limnológicos, metales e bioagentes patogénicos en la Cuenca Hidrográfica del Pardo: Evaluación del riesgo para la salud humana y análisis multivariante.** 2013. 133f. Tese (doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

El objetivo del estudio fue evaluar la calidad de las aguas superficiales y sedimentos del Río Pardo, teniendo en cuenta la estacionalidad y la relación entre los diferentes parámetros, y estimar el riesgo para la salud humana derivado de la exposición a metales. La lectura de los parámetros limnológicos fue realizada *in situ*. Los metales en agua y sedimento fueron analizados por Espectroscopia de Emisión Óptica con Plasma Inducido. El análisis parasitológico fue realizado por el Método de Sedimentación Expontánea y por el Método *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA/USEPA* 1623. Para la cuantificación bacteriana se usó la técnica de Tubos Múltiples Substrato Cromogénico. Para la evaluación de riesgo a la salud humana por exposición a metales presentes en el agua superficial fue considerado el escenario domiciliario, de acuerdo con USDOE y USEPA. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Ecotoxicología y Parasitología Ambiental (LEPA) de la Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto/USP, y en el Laboratório de Salud Medio Ambiental y Toxicología de la Universidad Rovira i Virgili, España. Algunos parámetros limnológicos (pH y OD) presentaron valores superiores de los establecidos por la Res. CONAMA N° 357/2005, así como la evaluación bacteriológica. El análisis parasitológico mostró la presencia de *Entamoeba coli*, *Hymenolepis diminuta*, *Strongyloides stercoralis*, *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. En comparación con los padrones de calidad establecidos por la Res. CONAMA N° 357/2005, las concentraciones de los metales analizados en el agua superficial están en conformidad con la legislación brasileira. Los resultados de los análisis en sedimentos mostraron que todos los metales presentaron concentraciones promedio de acuerdo con los padrones establecidos por la Res. CONAMA N° 344/2004, a pesar de que Cu y Cr presentaron en algunos puntos de colecta, concentraciones superiores a las establecidas para nivel 1. La evaluación de riesgo para la salud humana por exposición a metales indicó que el agua puede representar riesgo para elementos no-carcinogénicos (As, Cd, Cr IV, Cu, Mn, Ni, Tl, Sn, V and Zn), mientras que las concentraciones de los elementos carcinogénicos (As) están dentro dos límites aceptables de riesgo. PCA y HCA fueron aplicados e permitieron identificar variaciones espaciales y sazonais causadas por factores naturales y antropogénicos, además de asociaciones entre las variables. Los resultados sugieren que la calidad de las aguas y sedimento del Río Pardo es afectada por factores naturales y antropogénicos, incluyendo la estructura geológica, mineralogía, precipitación y eventos de infiltración superficial, así como crecimiento de los espacios urbanos con consecuente aumento de la población e incremento de procesos de industrialización regional. Hay una clara tendencia de concentración urbana y aumento poblacional en las proximidades del Río Pardo, envolviendo desarrollo económico que tiene impactos sobre los recursos hídricos. Frente a esa realidad, que establece un aumento en la demanda de fuentes de agua para el consumo de la población, se presenta como una posibilidad estratégica para el futuro, el uso de ese cuerpo hídrico para el abastecimiento público de Ribeirão Preto y de otros municipios bañados por el Río Pardo, lo que evidencia la importancia de este estudio.

Palabras claves: Agua superficial, Sedimentos, Limnología, Metales, Evaluación del Riesgo Coliformes, Parásitos, Análisis Multivariante, Salud Ambiental, Rio Pardo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação gráfica da disponibilidade de água superficial no Estado de São Paulo.

Figura 2 - Evolução da distribuição do Índice de Qualidade das Águas (IQA), no período de 2007 a 2012 no Estado de São Paulo.

Figura 3 - Distribuição porcentual das categorias do IQA em 2012 em função da época do ano.

Figura 4 - Particionamento dos metais em sistemas aquáticos entre 3 grandes fases e algumas condições ambientais que favorecem cada fase.

Figura 5 - Estágios da avaliação da exposição.

Figura 6 - Representação esquemática da localização das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos, no Estado de São Paulo.

Figura 7 - Médias mensais de precipitação na cidade de Ribeirão Preto (mm) de 2002 a 2012.

Figura 8 - Mapa hidrológico com os pontos de coleta de amostras ao longo do Rio Pardo e as coordenadas obtidas in situ com GPS (Global Positioning System) e imagens dos pontos de coleta 1 (Nascente), 2, 9 e 12 (Foz).

Figura 9 - Imagem do momento da coleta de amostras no Ponto 7.

Figura 10 - Mapa hidrológico com os pontos de coleta de amostras ao longo do Rio Pardo (Montante e Jusante) e as coordenadas obtidas in situ com GPS.

Figura 11 - Comparações das concentrações de metais em águas superficiais entre as zonas a Montante e a Jusante ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

Figura 12 - Imagem de *Strongyloides stercoralis* encontrada durante a segunda coleta.

Figura 13 - Comparação entre os números de cistos de *Giardia* (cisto. L^{-1}) e oocistos de *Cryptosporidium* (oocisto. L^{-1}) encontrados nos pontos de coleta 7 e 8.

Figura 14 - Imagens microscópicas de oocistos de *Cryptosporidium* (seta maior) e cistos de *Giardia* (seta menor) identificados na água superficial do Rio Pardo. (A) Imunofluorescência; (B) DAPI; (C) Contraste de fases.

Figura 15 - Perfil da distribuição dos valores encontrados para Coliformes totais (NMP/100 mL) ao longo do Rio Pardo.

Figura 16 - Perfil da distribuição dos valores encontrados para *E. coli* (NMP/100 mL) ao longo do Rio Pardo.

Figura 17 - Gráfico 2D dos *Loadings* gerados pela PCA. (a): *Loadings* PC1 X PC2. (b): *Loadings* PC3 X PC4.

Figura 18 - Gráfico 2D dos *Scores* gerados pela PCA e os principais agrupamentos identificados. (a): *Scores* PC1 X PC2. (b): *Scores* PC3 X PC4

Figura 19 - Dendograma com os 3 principais agrupamentos formados (I, II, III) e seus subagrupamentos.

Figura 20 - Valores de pH ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca.

Figura 21 - Médias mensais da temperatura no município de Ribeirão Preto no período de 01/08/2002 a 01/08/2012.

Figura 22 – Valores da Temperatura ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca ($^{\circ}\text{C}$).

Figura 23 - Valores de OD ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca (mg.L^{-1}).

Figura 24- Valores de Condutividade ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca ($\mu\text{S.cm}^{-1}$).

Figura 25 - Valores de Turbidez ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca (FTU).

Figura 26 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação chuvosa, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação à balneabilidade e os valores de *E. coli*.

Figura 27 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação seca, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação à balneabilidade e os valores de *E. coli*.

Figura 28 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação chuvosa, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação aos demais usos e valores de *E. coli*.

Figura 29 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação seca, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação aos demais usos e valores de *E. coli*.

Figura 30 - Lançamento de efluentes de origem doméstica e outros objetos no Rio Pardo no município de Ipuiúna, MG.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites de detecção para os diferentes metais analisados ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

Tabela 2 - Exemplos de parâmetros de distribuição de Monte Carlo para a exposição ao metal. Dados de entrada (*Input data*).

Tabela 3 - Doses de referência para a exposição ambiental aos metais.

Tabela 4 - Médias, desvios padrões e as faixas de variação dos valores de pH, Temperatura, OD, Condutividade e Turbidez durante estação chuvosa.

Tabela 5 - Médias, desvios padrões e as faixas de variação dos valores de pH, Temperatura, OD, Condutividade e Turbidez durante estação seca.

Tabela 6 - Concentração de metais na água superficial de acordo com as estações ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

Tabela 7 – Média, desvio padrão e a faixa de concentrações dos metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$) em sedimentos das seis campanhas realizadas nos diferentes pontos de amostragem nas duas zonas de estudo (Montante e Jusante).

Tabela 8 – Previsão da exposição oral (ingestão) diária e absorção dérmica de metais por meio da água (Montante e Jusante), para adultos e crianças, e o quociente de risco não carcinogênico (HQ) e índice de risco (HI).

Tabela 9 - Distribuição do risco carcinogênico por meio da ingestão e absorção dérmica para os adultos na zona a Montante e a Jusante para As.

Tabela 10 - Quantidade de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro de água superficial coletada.

Tabela 11- Média dos valores (%) dos testes Easy Seed e Color Seed para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.

Tabela 12 - Média, desvio padrão e a faixas de variação dos valores encontrados para Coliformes totais em NMP/100 mL.

Tabela 13 - Média, desvio padrão e a faixas de variação dos valores encontrados para *E. coli* em NMP/100 mL.

Tabela 14 – Matriz de correlação das 13 variáveis utilizadas para a PCA. Altas correlações, positivas e negativas, estão sublinhadas e em negrito.

Tabela 15 – Matriz de componentes rotacionada.

Tabela 16 - Padrões de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira para metais em água superficial e sedimento ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

LISTA DE SIGLAS

AECID	Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo
APHA	American Public Health Association
CAS	Chemical Abstracts Service
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CIIAGRO	Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CBH	Comitê de Bacia Hidrográfica
CIIAGRO	Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas
DAEE	Departamento de Águas e Energia Elétrica
DAERP	Departamento de Água e Esgoto de Ribeirão Preto
DAPI	4',6-Diamidino-2-fenilindol dihidroclorídrico
DP	Desvio Padrão
ELCR	Excess Lifetime Cancer Risk
EPA	Environmental Protection Agency
FITC	Fluorocromo Isotiocianato de Fluoresceína
FTU	Unidades de Turbidez Formazina
GPS	Global Positioning System
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamento
HI	Índice de Risco
HI _{ing}	Índice de Risco (ingestão)
HI _{der}	Índice de Risco (dermal)
HI _{total}	Índice de Risco (total)
HQ	Quociente de Risco Não Carcinogênico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-AES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IMS	Separação Imunomagnética
IQA	Índice de Qualidade das Águas

LEPA	Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental
MG	Minas Gerais
MPC	Concentrador Magnético de Partículas
ND	Não Detectado
NMP	Número Mais Provável
OD	Oxigênio Dissolvido
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão Fosfato-Salino
PBST	Tampão Fosfato-Salino com Tween
PCA	Análise de Componentes Principais
PCs	Componentes Principais
pH	Potencial Hidrogeniônico
RfD	Dose de Referência
RfDd	Dose de Referência (dermal)
RfDo	Dose de Referência (oral)
RP	Ribeirão Preto
RPM	Rotações Por Minuto
SF	Slope Factor
SIGRH	Sistema de Informações para o Gerenciamento de Recursos Hídricos
SP	São Paulo
UGRHI	Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos
USA	United States of America
USP	Universidade de São Paulo
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UV	Ultravioleta
VMP	Valor Máximo Permissível
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Adulto
As	Arsênico
AT	Período de Exposição
Be	Berílio
BW	Peso corpóreo
C	Criança
ca	Carcinogênico
Cd	Cádmio
Cr	Cromo
Cr (VI)	Cromo Hexavalente
Cu	Cobre
Cw	Concentração do composto químico na água
ED	Duração da exposição
EF	Frequência de exposição
ET	Tempo de exposição
h	Hora
Eh	Potencial de Óxido-Redução
Expder	Concentração da exposição aos metais via contato dérmico
Exping	Concentração da exposição aos metais via ingestão
Fe	Ferro
HCl	Ácido Clorídrico
Hg	Mercúrio
HNO ₃	Ácido nítrico
IR	Taxa de ingestão de água
Kg	Kilograma
Km	Kilômetros
Kp	Constante de permeabilidade para cada metal
L	Litro

m ²	Metro quadrado
mg	Miligrama
mL	Mililitro
Mn	Manganês
No	Número
nc	Não carcinogênico
Ni	Níquel
nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
Pb	Chumbo
<i>p</i>	Valor-p ou nível descritivo
AS	Superfície de pele exposta
Sn	Estanho
spp.	Espécies
Tl	Tálio
V	Vanádio
W	Watts
Zn	Zinco
μl	Microlitro
μm	Micrometro
μs	Microsiemens
%	Porcentagem

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	4
AGRADECIMENTOS	5
EPÍGRAFE	6
RESUMO	7
ABSTRACT	9
RESUMEN	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	15
LISTA DE SIGLAS	17
LISTA DE SÍMBOLOS	19
1 INTRODUÇÃO.....	25
1.1 Avaliação de parâmetros limnológicos.....	30
1.2 Metais em água superficial e sedimento	32
1.3 Agentes patogênicos em água e esgoto	35
1.4 Avaliação de risco à saúde humana.....	39
1.5 Análise exploratória multivariada (análise de componentes principais e análise de hierárquica de agrupamento)	40
2 OBJETIVOS.....	44
2.1 Objetivo geral	44
2.2 Objetivos específicos.....	44
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.1 Local de estudo	47
3.2 Coleta das amostras	48
3.3 Leitura de parâmetros limnológicos	51
3.4 Análise de metais.....	51
3.5 Avaliação do risco para a saúde humana.....	53
3.5.1 Riscos não carcinogênicos.....	55
3.5.2 Riscos carcinogênicos.....	56
3.6 Análise parasitológica.....	57
3.7 Análise bacteriológica	61
3.8 Análise dos dados	62
4 RESULTADOS	64
4.1 Avaliação limnológica.....	64

4.1.1 pH	65
4.1.2 Temperatura.....	66
4.1.3 Oxigênio dissolvido (OD)	66
4.1.4 Condutividade.....	66
4.1.5 Turbidez.....	67
4.2 Avaliação de metais.....	67
4.2.1 Concentrações de metais nas águas superficiais.....	67
4.2.2 Concentrações de metais em sedimentos.....	69
4.2.3 Risco não cancerígeno	70
4.2.4 Risco cancerígeno.....	72
4.3 Análise parasitológica.....	73
4.4 Análise microbiológica.....	76
4.4.1 Coliformes totais	76
4.4.2 E. coli.....	78
4.5 Análise de Componentes Principais (PCA).....	80
4.6 Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)	85
5 DISCUSSÃO	87
5.1 Avaliação limnológica.....	88
5.1.1 pH	88
5.1.2 Temperatura.....	89
5.1.3 Oxigênio dissolvido (OD)	91
5.1.4 Condutividade.....	92
5.1.5 Turbidez.....	93
5.2 Avaliação de metais.....	94
5.2.1 Concentração de metais na água e sedimentos.....	94
5.2.2 Riscos não carcinogênicos.....	96
5.2.3 Risco carcinogênico.....	97
5.3 Análise parasitológica.....	97
5.4 Avaliação microbiológica.....	101
5.5 Análise de Componentes Principais (PCA).....	107
5.6 Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)	108
6 CONCLUSÕES	111
6.1 Avaliação Limnológica.....	111
6.2 Avaliação de metais	111
6.3 Avaliação do risco para a saúde humana.....	112
6.4 Avaliação parasitológica	113
6.5 Avaliação microbiológica.....	113
6.6 Análise exploratória multivariada (PCA e HCA).....	114
7 CONSIDERAÇÕES	116

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120
------------------------------------	-----

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A água é essencial para a vida e sua qualidade está sob pressão constante. Preservar a qualidade da água doce é importante para o abastecimento de água potável, produção de alimentos e usos recreacionais. A qualidade da água pode ser comprometida pela presença de agentes infecciosos, produtos químicos tóxicos e rejeitos radioativos (WHO, 2011a).

Águas superficiais representam um dos recursos naturais mais importantes para os seres humanos, para a vida selvagem e para o meio ambiente. Muitas comunidades emergiram perto de rios ou onde a água pudesse ser obtida de modo a garantir a produção de alimentos necessários para a manutenção da população (CLEICK, 2001). Os rios são recursos abertos, de fácil acesso, e muito utilizados em instalações industriais, agrícolas e municipais. Devido ao crescimento populacional, a demanda por água limpa está aumentando com uma menor oferta disponível. A proteção das águas superficiais tornou-se um problema de segurança. Uma vez contaminada, a localização de vazamentos deve ser identificada rapidamente; procedimentos de mitigação podem então ser tomados para minimizar o impacto sobre o sistema de abastecimento de água, locais de recreação e ao meio ambiente (CHENG; JIA, 2010).

A vazão média anual dos rios brasileiros em território nacional é cerca de 180 mil m³/s. Este valor corresponde a aproximadamente 12% da disponibilidade mundial de recursos hídricos, que é cerca de 1,5 milhões de m³/s (SHIKLOMANOV, 1998). A América do Sul detém 60% da água doce superficial do continente, sendo que o Brasil detém 28% do total (ANA, 2007).

O Brasil apresenta uma situação confortável, em termos globais, quanto aos recursos hídricos. A disponibilidade hídrica *per capita*, determinada a partir de valores totalizados para o País, indica uma situação satisfatória, quando comparada aos valores dos demais países informados pela Organização das Nações Unidas (ONU). Entretanto, apesar desse aparente conforto, existe uma distribuição espacial desigual dos recursos hídricos no território brasileiro. Cerca de 80% de sua disponibilidade hídrica estão concentrados na Região Hidrográfica Amazônica, onde se encontra o menor contingente populacional, além de valores reduzidos de demandas consuntivas (ANA, 2012a).

Sobre a situação da qualidade das águas superficiais no Brasil, o “Panorama da Qualidade das Águas Superficiais - 2012”, estudo conduzido pela Agência Nacional de Águas (ANA) com apoio do Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID) e dos órgãos gestores estaduais de

recursos hídricos, revela que dos 1.988 pontos monitorados em 2010, em áreas urbanas e rurais, 75% têm condição boa de IQA (Índice de Qualidade de Água); 6%, excelente; 11%, regular e 7%, ruim ou péssima. A análise dos corpos de água localizados em áreas urbanas indica que 47% dos 135 pontos monitorados apresentam condição péssima ou ruim, reflexo da alta taxa de urbanização nessas regiões e dos baixos níveis de coleta e tratamento de esgotos domésticos. A maioria (61%) dos pontos nas classes péssima e ruim está na Região Hidrográfica do Paraná, que possui 32% da carga remanescente de esgotos domésticos do País. Nesta região estão São Paulo, Curitiba, Goiânia e Campinas, sendo que as três primeiras se localizam em trechos de cabeceiras dos rios Tietê, Iguaçu e Meia Ponte, o que agrava a situação, já que as cabeceiras de rios apresentam menor vazão e, conseqüentemente, têm menor capacidade de diluir as cargas poluidoras (ANA, 2012b). Para o cálculo do IQA são consideradas variáveis de qualidade que indicam o lançamento de efluentes sanitários para o corpo d'água, fornecendo uma visão geral sobre as condições de qualidade das águas superficiais (CETESB, 2013).

O Estado de São Paulo encontra-se 1,6 % da água doce brasileira (DAEE, 2007). De acordo com o Relatório de Análise da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo de 2006 (CETESB, 2006a), a qualidade da água para abastecimento público é imprópria em 18% dos rios e reservatórios existentes no estado, uma vez que estes foram classificados como ruins ou péssimos. A Figura 1 mostra a situação da disponibilidade da água superficial no Estado de São Paulo.

Figura 1 - Representação gráfica da disponibilidade de água superficial no Estado de São Paulo

Fonte: Representação gráfica modificada do Departamento de Água e Energia Elétrica do Estado de São Paulo - DAEE, 2007

A qualidade das águas no Estado de São Paulo é influenciada, dentre outros, pelos índices de tratamento de esgotos domésticos e pelas chuvas. Em 2009, embora tenha havido um aumento do percentual de tratamento dos esgotos domésticos, atingindo 49%, não se constatou, por meio dos índices de qualidade de água, uma tendência de melhora. A chuva de 2009, 26% superiores à média histórica dos últimos 14 anos, deve ter sido uma das principais causas da manutenção do quadro de qualidade, devido ao aporte adicional de poluentes aos corpos hídricos, consequência da carga difusa (CETESB, 2010). A Figura 2 mostra a evolução da distribuição do Índice de Qualidade das Águas (IQA), no período de 2007 a 2012 no Estado de São Paulo.

Figura 2 - Evolução da distribuição do Índice de Qualidade das Águas (IQA), no período de 2007 a 2012 no Estado de São Paulo

Fonte: (CETESB, 2013)

O aumento no tratamento de esgoto doméstico no Estado de São Paulo, passando de 45 para 59% de 2007 a 2012, contribuiu para a manutenção da qualidade da água. Contudo, o incremento de cerca de 900 mil habitantes nesse período pode ter afetado de forma negativa a qualidade dos corpos d'água, devido ao aumento da vazão de água captada e da geração de efluentes (CETESB, 2013).

Comitês de Bacias Hidrográficas (CBH) foram criados no estado de São Paulo, e instituídos por Lei, no âmbito do Sistema Nacional de Recursos Hídricos e dos Sistemas Estaduais considerados a base de uma gestão participativa e integrada de água superficial. Os comitês de Bacias Hidrográficas têm papel deliberativo e são compostos por representantes do poder público e da sociedade civil.

Antes de sua criação, o gerenciamento da água era feito de forma isolada por municípios e Estado. As informações estavam dispersas em órgãos técnicos e os dados não eram sempre compatíveis. Essa falta de políticas públicas integradas e eficientes para o manejo dos recursos naturais provocou a degradação de muitos rios. Com a criação dos comitês, o estado de São Paulo foi dividido em 22 unidades de gerenciamento, de acordo com as bacias hidrográficas e afinidades geopolíticas. Cada uma dessas bacias passou a se chamar Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) (REDE DAS ÁGUAS, 2011)

A Bacia do rio Pardo (UGRHI 4 - localizada na região Hidrográfica da Vertente Paulista do Rio Grande) abrange todo o trecho à montante do Rio Pardo, a partir da sua confluência com o Rio Mogi-Guaçu, abrigando um contingente populacional de cerca de 1.042.000 habitantes, com uma drenagem da ordem de 10.694 km² (SIGRH, 2009). A UGRHI 4 Pardo, foi definida pela Lei Estadual nº 9.034 de 27 de dezembro de 1994, possuindo área de 8.991,02 km². O Comitê da Bacia Hidrográfica do Pardo, instalado aos 12 dias do mês de junho do ano de 1996 no Município de Ribeirão Preto, possui 23 municípios com sede na UGRHI 4, 3 municípios com sede em outras UGRHIs, porém núcleos urbanos na UGRHI 4 e 1 município com área na UGRHI 4, porém, sem núcleo urbano na mesma, sendo Ribeirão Preto a principal cidade da UGRHI 4, com 605.114 habitantes, segundo o censo 2010 do IBGE, (o que corresponde a aproximadamente 56% da população da bacia), naturalmente concentra as atividades econômicas da região (CBH-GRANDE, 2011).

A UGRHI 4 possui o IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) variando de 0,783 a 0,798. Os números de estabelecimentos industriais variam de 3000 a 5000 e os de estabelecimentos comerciais e serviços variando de 14000 a 22000. A disponibilidade hídrica varia de 1 a 1750 m³/s, com uma demanda total de água (superficial e subterrânea) de 15, 1 a 49,9 m³/s e um consumo total de água *per capita* variando entre 3,25x10¹⁰ a 1x10¹¹ L/ano. O volume médio de esgoto doméstico produzido no ano de 2000 apresentou valores de 3,01x10¹⁰ a 6x10¹⁰ litros e proporção de municípios com esgoto sem tratamento de 27,4% a 78,4%. O número de áreas contaminadas na bacia varia entre 43 a 59 (CBH-GRANDE, 2008).

A quantidade de internações por doenças de veiculação hídrica na região da bacia no ano de 2006 foi de 2001 a 3770 casos e a quantidade de óbitos decorrentes de doenças de veiculação hídrica no mesmo ano variou entre 141 a 219 (CBH-GRANDE, 2008).

No ano de 2006 a cana-de-açúcar era equivalente a 97% dos principais produtos da agricultura temporária, ocupando uma área de 367.533 hectares, aproximadamente 41% da área total da UGRHI 4. Já a agricultura permanente apresenta a laranja correspondendo a 92% dos principais produtos, ocupando um total de 65.096 hectares, aproximadamente 7,2% da área total da UGRHI 4 (CBH-GRANDE, 2008).

Os setores de prestação de serviços e comércio ocupam, também, destaque na economia da bacia. Sob o panorama hídrico, a bacia se enquadra como “bacia em industrialização”, considerando à demanda de água, enquanto bem gerador de divisas econômicas. Apresenta uma

disponibilidade hídrica superficial razoável, comparativamente às demais bacias do estado. A qualidade de modo geral, é tida como de média a boa (SIGRH, 2009). Porém, considerando que as atividades citadas acima possuem um potencial poluidor, torna-se fundamental o monitoramento da qualidade dos rios da Bacia do Rio Pardo.

A manutenção da qualidade ambiental dos rios está diretamente relacionada ao conhecimento das variáveis que interferem em sua dinâmica, sejam elas resultantes das ações do homem sobre o ambiente ou de suas transformações naturais. O grande desafio é criar indicadores que caracterizem efetivamente o estado dos ecossistemas fluviais, que sejam sensíveis o suficiente para captar aspectos da condição ambiental e fornecer informações científicas úteis à gestão e conservação destes recursos, de forma cada vez mais realista (RODRIGUES, 2009).

A avaliação de riscos em bacias hidrográficas e o monitoramento de agentes químicos e biológicos são instrumentos de grande importância para o desenvolvimento sustentável de uma bacia e também para a saúde coletiva, considerando os problemas causados pela ocupação de áreas impróprias, erosão, assoreamento, enchentes, efluentes clandestinos e disposição de resíduos.

1.1 Avaliação de parâmetros limnológicos

Podemos considerar como importante ferramenta no estudo dos problemas ambientais a avaliação de parâmetros limnológicos, contribuindo na compreensão dos principais mecanismos de funcionamento dos ecossistemas aquáticos, auxiliando na gestão da qualidade da água, em particular na região tropical, tendo um importante papel no monitoramento e recuperação dos corpos de água, com grande importância quando diz respeito ao controle da eutrofização (processo decorrente do excesso de nutrientes básicos) (ESTEVES, 2011).

Algumas variáveis que orientam os parâmetros físico-químicos, de acordo com a CETESB (2006), com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) N°357/2005 e outros estudos, foram definidas da seguinte forma: pH - Influencia os ecossistemas aquáticos naturais devido a seus efeitos na fisiologia de diversas espécies. Para que se conserve a vida aquática, o pH ideal deve variar entre 6 e 9 (ESTEVES, 2011); Temperatura - Desempenha um importante papel no controle de espécies aquáticas, podendo ser considerada uma das

características mais importantes do meio aquático. Seu valor pode variar entre 0°C e 30°C (SILVA *et al.*, 2008); Oxigênio Dissolvido - O oxigênio é um elemento essencial no metabolismo dos seres aquáticos aeróbicos. Em águas correntes, sob circunstâncias normais, o conteúdo de oxigênio é alto e varia ao longo do rio, devido a alterações em suas características ambientais e em consequência das condições climáticas (MAIER, 1987). Baixos valores podem estar associados a uma grande quantidade de matéria orgânica na água, que pode levar a uma eutrofização do córrego (CETESB, 2009). A concentração do oxigênio na água varia com a sua temperatura (relação concentração/temperatura está intimamente ligada), bem como a solubilidade desse gás depende ainda da pressão atmosférica e da salinidade da água; Condutividade - É a medida da capacidade da água em conduzir corrente elétrica, cujos valores são expressos em micro Siemens ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$). É função da concentração de íons presente na água que possam conduzir esta corrente elétrica, mas seu valor, além de depender da temperatura, também difere para cada íon (ESTEVES, 2011). Em geral, níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados (CETESB, 2009); Transparência - A transparência da água pode variar de alguns centímetros a dezenas de metros. Esta região da coluna d'água chama-se zona eufótica, varia com a capacidade da água em atenuar a radiação subaquática e corresponde à profundidade onde a intensidade da radiação solar equivale a 1% daquela que atinge a superfície. Do ponto de vista óptico, a transparência da água pode ser considerada o oposto da turbidez e está diretamente relacionada com a produção primária. Mudanças em seus valores podem ser causados por fatores abióticos (partículas sólidas em suspensão) ou bióticos (algas e microrganismos) (ESTEVES, 2011); Sólidos em suspensão - Todas as impurezas, com exceção dos gases dissolvidos, são consideradas sólidos suspensos em corpos d'água. Altas concentrações de sólidos em suspensão reduzem a passagem de luz solar, afetam organismos bentônicos e desequilibram as cadeias tróficas (TAVARES, 2005).

No Brasil, o regime de chuvas apresenta uma sazonalidade marcante e evidencia uma estação seca e outra chuvosa que acontece em épocas diferentes de acordo com a localização geográfica (FIGUEROA; NOBRE, 1989). Além da variação mensal da chuva, seu ciclo diurno também varia espacialmente (DE ANGELIS; MCGREGOR; KIDD, 2004) podendo afetar as concentrações das variáveis físico-químicas presentes nos rios. A chuva é um agente regulador dos cursos de água, e deve ser considerada em estudos que envolvem a qualidade da água de rios e tributários (SILVA *et al.*, 2008). A Figura 3 mostra a distribuição porcentual das categorias do

Índice de Qualidade das Águas (IQA) em 2012 em função da época do ano de acordo com o Relatório de Análise da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo de 2012.

Figura 3 - Distribuição porcentual das categorias do IQA em 2012 em função da época do ano

Fonte: (CETESB, 2013)

1.2 Metais em água superficial e sedimento

Dentre os diferentes contaminantes químicos, o estudo dos metais vem sendo considerado prioritário nos programas de promoção da saúde em escala mundial.

A água é fonte natural de alguns metais definidos como oligoelementos essenciais para a vida; tais micronutrientes, em ínfimas quantidades, desempenham um papel determinante como constituintes de enzimas ou como elementos que intervêm na síntese das mesmas. Níveis deficitários ou excessivos desses metais podem desencadear danos à saúde. Além dos metais essenciais, a água pode conter metais tóxicos que podem causar doenças ao ser humano (NIKAIDO *et al.*, 2004).

Os metais podem ficar retidos no solo, seja dissolvidos em solução ou fixados por processos de adsorção, complexação e precipitação. Também podem ser absorvidos pelas plantas, e assim incorporados às cadeias tróficas, passar para a atmosfera por volatilização ou mover-se para águas superficiais ou subterrâneas. A disponibilidade química dos metais depende de sua espécie e das características do meio, como pH, potencial de oxi-redução da água, presença de cátions competidores (Ca^{+2} , Fe^{+2} , Mg^{+2} , por exemplo) e concentração de ligantes orgânicos e inorgânicos aos quais o metal pode se complexar ou se adsorver. Quanto maior a disponibilidade, maior o potencial tóxico ou a bioacumulação da substância (CHASIN; PEDROZO, 2003).

Os metais entram no ambiente aquático por diferentes fontes. Embora muitos ocorram naturalmente nos ciclos biogeoquímicos (GARRETT, 2000), eles podem alcançar o ambiente aquático por fontes antropogênicas, tais como efluentes domésticos e industriais, enxurradas, lixiviados de aterros, fontes atmosféricas e atividades de embarcações (FÖRSTNER; WITTMANN, 1979).

Algumas atividades industriais fontes de metais são: indústria de baterias automotivas, chapas de metal semi-acabado, canos de metal, aditivos em gasolina, munição, indústria de reciclagem de sucata de baterias automotivas para reutilização de chumbo, fundição e refinação de metais como zinco, chumbo e cobre, mineração e o uso de seus derivados na indústria e na agricultura, células de eletrólise do sal para produção de cloro, curtimento de couros, galvanoplastia, metalurgia, indústrias recicladoras de chumbo (GREENPEACE, 2007).

Os efeitos tóxicos dos metais podem expressar-se de forma aguda ou crônica. Dentre os mecanismos de toxicidade dos metais estão incluídas as interações com sistemas enzimáticos, interações com membranas celulares, efeitos específicos sobre certos órgãos e sobre o metabolismo celular em geral (GOYER, 1986).

Na coluna d'água os teores de metais dissolvidos tendem a variar por várias ordens de magnitude ao longo do tempo e dos diferentes pontos de amostragem, o que se deve ao grande número de variáveis envolvidas na sua dinâmica, tais como variações diárias e sazonais de fluxo d'água, descargas locais de esgotos urbanos e industriais, variações de pH e condições redox, níveis de detergentes, salinidade e temperatura. Apesar de tais variações, a determinação das concentrações dos metais dissolvidos na água constitui uma ferramenta útil na avaliação do grau de contaminação de um determinado ecossistema e tem sido utilizada por diferentes pesquisadores em todo o mundo (TOMAZELLI *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2011; SU *et al.*, 2013).

A Figura 4 apresenta o particionamento dos metais em sistemas aquáticos entre 3 grandes fases e algumas condições ambientais que favorecem cada fase.

Figura 4 - Particionamento dos metais em sistemas aquáticos entre 3 grandes fases (dentro do triângulo) e algumas condições ambientais que favorecem cada fase (fora do triângulo). (Adaptado de Elder, J.F. 1988. Metal Biogeochemistry in Surface-Water Systems - A Review of Principles and Concepts. U.S. Geological Survey Circular 1013)

Nos sedimentos de rios, lagos e mares, os contaminantes orgânicos adsorvidos às partículas têm sua mobilidade e disponibilidade reduzida. A natureza das substâncias, da força da ligação, a temperatura do meio, o pH e o teor de oxigênio determina a disponibilidade química da substância. O teor de oxigênio na água determina a natureza e a velocidade das transformações químicas e bioquímicas; tais teores diferem nos sedimentos. No fundo dos oceanos as condições são anaeróbicas, enquanto nos cursos d'água de fluxo intenso os níveis de oxigênio são relativamente elevados (VAN STRAALLEN, 1996; WALKER *et al.*, 2001).

O sedimento tem sido cada vez mais utilizado em estudos de avaliação da qualidade de ecossistemas aquáticos, por retratar condições históricas das influências de atividades

antropogênicas sobre estes ambientes, nem sempre detectáveis pelo uso de variáveis da água (CETESB, 2006a; ROIG *et al.*, 2011)

Dentre os metais podem ser citados arsênico (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), mercúrio (Hg), níquel (Ni), zinco (Zn), dentre outros, como os mais estudados e de maior interesse, devido a seus efeitos à saúde humana (PEIRANO, 2003; SEGURA-MUÑOZ *et al.*, 2006).

1.3 Agentes patogênicos em água e esgoto

Abastecimento de água potável, saneamento básico e gestão da água de boa qualidade são fundamentais para a saúde global. Quase um décimo das doenças globais poderia ser prevenido por aumento ao acesso à água potável; melhoria do saneamento e higiene; melhoria da gestão da água para reduzir os riscos de doenças transmitidas pela água contaminadas e afogamento acidental durante atividades recreativas (WHO, 2008).

Anualmente, águas mais seguras poderiam prevenir 1,4 milhões de mortes de crianças por diarreia; 500.000 mortes por malária; 860.000 mortes de crianças por desnutrição, e 280.000 mortes por afogamento. Além disso, 5 milhões de pessoas poderiam ser protegidas para não serem gravemente incapacitadas por filariose linfática e outros 5 milhões por tracoma (WHO, 2008).

Ao longo do seu percurso, as águas naturais, superficiais ou subterrâneas, podem ser contaminadas com microrganismos patogênicos como, por exemplo, os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., as bactérias *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio* spp. e *Mycobacterium* spp., ou vírus (Hepatite A ou Polio). Alguns destes organismos podem sobreviver longos períodos de tempo em águas naturais, não necessitando do homem como hospedeiro, enquanto outros possuem uma capacidade de sobrevivência muito reduzida.

Desde as civilizações mais remotas, se observa a existência da preocupação constante do homem em relação à qualidade da água e à transmissão de doenças. De acordo com Branco (1986), os seres patógenos são lançados nos despejos de origem doméstica, fundamentalmente formados por matéria fecal humana e animal, existentes nos ambientes aquáticos. Esses organismos são incapazes de reproduzir-se ou mesmo sobreviver por muito tempo, embora

constituam um indício seguro de contaminação, apresentam uma curta duração fora do organismo humano e a dificuldade dos processos para identificação.

As infecções por helmintos e protozoários estão entre os mais frequentes agravos do mundo. As enteroparasitoses podem afetar o equilíbrio nutricional, pois interferem na absorção de nutrientes, induzem sangramento intestinal, reduzem a ingestão alimentar e ainda podem causar complicações significativas, como obstrução intestinal, prolapso retal e formação de abscessos. A ingestão de água contaminada sem tratamento prévio tem aumentado o número de internações hospitalares (ROQUE, 1997), decorrentes principalmente dos riscos relativos à ingestão de águas contaminadas por agentes biológicos (vírus, bactérias e parasitas), bem como por riscos derivados de poluentes químicos. As enteroparasitoses por possuírem sistemas infectivos com mecanismos de infecção oral e/ou ativo cutâneo, apresentam distribuição cosmopolita, com variação na prevalência (NEVES, 2005).

De acordo com a WHO (1992), os helmintos de grande importância médica estão divididos em três grupos: nematodos (áscaris), cestodos (tênias) e trematodos (distomas). Para a saúde pública os nematodos de grande importância são: *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostomas* (*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*), *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* e outros; já os cestodos são: Teniasas humanas (*Taenia saginata* e *Taenia solium*), *Diphyllobothrium*, *Echinococcus*, *Hymenolepis*; entre os trematodos estão os esquistossomas como *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* e *S. intercalatum* e transmitidos por cercárias.

Estima-se que ascaridíase global afeta mais de 1,2 bilhão de pessoas, enquanto tricuriase e ancilostomíase 700 e 800 milhões de pessoas, respectivamente (DE SILVA *et al.*, 2003; BETHONY *et al.*, 2006).

Dentre os protozoários que podem ser ingeridos através da água, destaca-se a *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Giardia lamblia* e *Cryptosporidium* spp. (APHA, 1998; D'AGUILA *et al.*, 2000).

Cryptosporidium é um protozoário de vertebrados, causador, no homem, de diarreia como tem sido constatado em diversas partes do mundo. O quadro clínico da criptosporidiose depende do estado imunológico do hospedeiro, nos indivíduos portadores de imunodeficiência, é caracterizado por diarreia aquosa, severa e crônica, podendo levar a óbito; porém, é auto-limitado em pessoas imunocompetentes (FAYER; MORGAN; UPTON, 2000). A presença de

Cryptosporidium spp. também está associada a turbidez da água, onde são necessárias técnicas específicas para o diagnóstico (BASTOS *et al.*, 2001).

Giardia é um protozoário flagelado, causador de gastroenterite no ser humano bem como nos animais domésticos, ocasionando um espectro clínico diverso, desde infecção assintomática até quadros severos de diarreia persistente (PICKERING; ENGELKIRK, 1988). Devido ao seu crescente papel em surtos de diarreia, particularmente frequentes entre crianças atendidas em creches, é hoje considerado um agente infeccioso re-emergente (THOMPSON, 2000). Sua transmissão ocorre pela ingestão de água ou alimentos contaminados com cistos; além de promover uma variedade de sintomas e sinais clínicos como perda de peso e cólicas abdominais, o parasito pode provocar má-absorção intestinal e, conseqüentemente, retardo no desenvolvimento infantil (PICKERING; ENGELKIRK, 1988). Giardíase é uma doença reconhecidamente associada com águas de abastecimento para consumo humano. Recentemente, principalmente nos Estados Unidos da América (EUA), surtos de criptosporidiose também vêm sendo relacionados com essa via de transmissão (ROSE, 1988).

O *Balantidium coli* é o maior protozoário ciliado que parasita o ser humano, e causa a balantidíase, uma infecção do intestino grosso. É disseminado pela via fecal-oral de suínos domésticos ou silvestres para o homem, e também de pessoa a pessoa; essa última via ocorre entre populações alojadas em instituições que confinam pessoas: orfanatos, hospitais psiquiátricos, prisões, etc (GRYSCHER; LESCANO, 2008).

A *Entamoeba histolytica* é o agente etiológico da amebíase, importante problema de saúde pública que leva ao óbito anualmente cerca de 100.000 pessoas, constituindo a segunda causa de mortes por parasitoses (SILVA; GOMES, 2005). Este parasito vive na luz do intestino grosso do hospedeiro, mas ocasionalmente pode penetrar a submucosa e, pela circulação portal, pode alcançar o fígado e daí atingir outros órgãos (VIANA, 2008).

Segundo a WHO (2000), cerca de 3,5 bilhões de pessoas estão infectadas por helmintos e enteroprotzoários, das quais 450 milhões, a maior parte crianças, esteja doente. A cada ano acontecem cerca de 65.000 óbitos decorrentes das infecções por ancilostomídeos, 60.000 associados às infecções por *Ascaris lumbricoides* e 70.000 em razão das infecções por *Entamoeba histolytica*.

As conseqüências das infecções parasitárias variam de acordo com a espécie de patógeno presente no ambiente. Por exemplo, lançados ao solo, ovos de *Ancylostoma duodenalis*

implicariam em sérios danos à saúde pública, tendo em vista que o verme do amarelão se transmite através do contato com a pele, normalmente dos pés, com o solo contaminado. No entanto, pouco efeito teria na saúde pública se fosse lançado num curso d'água, já que neste meio não há transmissão da doença. O contrário acontece com o *Schistosoma mansoni* que num corpo receptor contendo o caramujo que atua como hospedeiro intermediário de cada ovo poderia originar um grande número de cercárias, podendo resultar em grave risco à saúde pública.

Em que pesem as incertezas quanto aos riscos reais de saúde impostos pela presença de reduzidas densidades de protozoários em águas tratadas, as evidências disponíveis têm concentrado novas atenções – no caso, de *Cryptosporidium* – e reacendido outras – no caso, de *Giardia* – quanto à necessidade de se aprofundarem os conhecimentos sobre as fontes de contaminação, a distribuição de protozoários em mananciais de abastecimento e a eficiência de remoção desses organismos pelos processos de tratamento. Considerável atenção e recursos têm sido direcionados para esclarecer a epidemiologia dessas doenças e limitar a propagação desses organismos (ROSE, 1988; SMITH; ROBERTSON; ONGERTH, 1995).

A investigação da presença do grupo coliforme termotolerantes, que pertence à flora intestinal, indica a possibilidade de existirem outros microorganismos como bactérias ou vírus patogênicos (BRANCO, 1991). As fezes de uma pessoa sadia contêm um grande número de bactérias comensais de várias espécies que variam em quantidade e tipo de acordo com hábitos e costumes da população. Estas grandes variações de espécies levaram os estudiosos a estabelecer indicadores de presença de contaminação como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*.

A contaminação do sistema público de abastecimento de água por esgotos, geralmente é detectada pela presença de coliformes na água; trata-se de um grupo de bactérias, pertencente à família Enterobacteriaceae, o qual representa a maior e mais heterogênea coleção de bacilos Gram-negativos de importância clínica. O gênero *Escherichia* consiste em cinco espécies, sendo que a *Escherichia coli* é a mais comum e de grande importância clínica, por se tratar de uma bactéria termo-tolerante, utilizada como um indicador de contaminação da água por fezes de animais de sangue quente (HELLER, 1997).

1.4 Avaliação de risco à saúde humana

Uma abordagem eficaz para determinar os níveis de risco à saúde apresentados por vários contaminantes é a avaliação de risco à saúde humana. O risco para a saúde humana tem sido aplicado para avaliar os efeitos adversos potenciais para a saúde quando há exposição à água e ar contaminados (SCHUHMACHER; DOMINGO; GARRETA, 2004; MARI *et al.*, 2008; KAVCAR; SOFUOGLU; SOFUOGLU, 2009; ROVIRA *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2010; NADAL; SCHUHMACHER; DOMINGO, 2011).

O objetivo principal da etapa de avaliação de risco é a identificação e quantificação dos riscos à saúde humana, decorrentes de uma área contaminada, uma vez que a saúde humana e a segurança da população devem ser priorizadas na avaliação de risco em uma área contaminada. As etapas de trabalho podem ser divididas em: aquisição e avaliação de dados, avaliação da exposição, análise de toxicidade e caracterização do risco (USEPA, 1989).

De acordo com *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) (2007), a avaliação da exposição humana aos metais, como qualquer agente químico, inclui: identificar como as pessoas entram em contato com os metais no ambiente (vias de exposição: ingestão, contato dérmico e inalação); determinar as concentrações das formas específicas (especiação) do metal no meio específico (água, solo, ar ou biota); identificar a medida de exposição pertinente (por meio da avaliação da dose-resposta); estimar a medida de exposição, o qual pode envolver quantificar as relações entre a concentração da exposição e ingestão; a identificação das fontes de incerteza e variabilidade natural e, quando possível, quantificar estes nas estimativas de exposição. A Figura 5 mostra os estágios da avaliação da exposição.

Figura 5 - Estágios da avaliação da exposição (modificado de EPA, 1989)

Há uma série de abordagens disponíveis para a análise da incerteza na avaliação de risco. A Simulação de Monte Carlo é uma técnica numérica muito comum para a Avaliação Probabilística do Risco (análises em que um grande número de variáveis devem ser avaliadas simultaneamente). Ela integra diferentes hipóteses, geralmente sobre a exposição, para chegar a distribuições possíveis (ou faixas) de risco ao invés de estimativas pontuais (USEPA, 1997; FERRÉ-HUGUET *et al.*, 2009).

A avaliação de risco carcinogênico possui grande importância para a avaliação de risco à saúde humana para a exposição aos metais. Pelo menos cinco metais de transição (As, Cd, Cr (VI), Be e Ni) são aceitos como cancerígenos humanos, de uma forma ou de outra, em rotas específicas de exposição. Compostos inorgânicos de Pb são considerados prováveis cancerígenos humanos, enquanto outros metais têm sinais mistos sobre carcinogenicidade potencial (USEPA, 2007; KOEDRITH; SEO, 2011).

1.5 Análise exploratória multivariada (análise de componentes principais e análise de hierárquica de agrupamento)

Pesquisas de longo prazo e programas de monitoramento da qualidade da água são abordagens adequadas para um melhor conhecimento da hidroquímica de um rio e poluição, mas

produzem grandes conjuntos de dados que muitas vezes são de difícil interpretação (DIXON; CHISWELL, 1996).

A análise de agrupamento hierárquica e a análise de componentes principais (PCA) têm sido amplamente utilizadas, já que são métodos imparciais que podem indicar as associações entre as amostras e/ou variáveis (WENNING; ERICKSON, 1994). Estas associações, baseadas em similaridades ou variações dos constituintes químicos e físicos, podem indicar a presença de influência sazonal ou antropogênica. A análise hierárquica de agrupamento (HCA) indica agrupamentos de amostras ligando similaridades entre as amostras e ilustra a similaridade total das variáveis no conjunto de dados. O objetivo da HCA é exibir os dados em um espaço bidimensional de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades, portanto quanto mais próximos estiverem os pontos no espaço amostral, mais similares eles são. Os resultados são apresentados na forma de dendogramas, os quais agrupam amostras ou variáveis em função da similaridade (MASSART; KAUFMAN, 1983).

A análise de componentes principais (PCA) é utilizada para reduzir as dimensões de um conjunto de dados, explicando a correlação entre um grande número de variáveis na forma de um pequeno número de fatores subjacentes ou componentes principais, sem perder muita informação, e permite avaliar associações entre as variáveis, pois indicam participação de químicos individuais em vários fatores de influência. PCA é um método exploratório porque auxilia na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados, contrastando com estudos direcionados nos quais hipóteses prévias são testadas. É também capaz de separar a informação importante da redundante e aleatória. Em uma análise de componentes principais, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de *scores* e *loadings*, cujos eixos são componentes principais (PCs) nos quais os dados são projetados. Os *scores* fornecem a composição das PCs em relação às amostras, enquanto os *loadings* fornecem essa mesma composição em relação às variáveis. Como as PCs são ortogonais, é possível examinar as relações entre amostras e variáveis através dos gráficos dos *scores* e dos *loadings*. O estudo conjunto de *scores* e *loadings* ainda permite estimar a influência de cada variável em cada amostra (JACKSON, 1991; FERREIRA *et al.*, 2002).

Embora existam estudos mais antigos, descrevendo e incluindo a análise exploratória de dados em seus objetivos, a utilização da mesma na área ambiental vem crescendo muito nos

últimos anos visando à avaliação da qualidade das águas de diferentes corpos hídricos, evidenciando influências sazonais, espaciais e antropogênicas (SILVA *et al.*, 2012; PANIZZON *et al.*, 2013; SHIN *et al.*, 2013).

O presente estudo fez parte de um projeto maior intitulado: *Herramienta de Gestión Ambiental para la Evaluación de Riesgos en Cuencas Hidrográficas*; aprovado pela *Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo* (AECID), em parceria com o Grupo Tecnatox da Faculdade *Rovira i Virgili* de Reus, Espanha, e possui os seguintes objetivos que serão listados a seguir.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a qualidade da água superficial e sedimento do Rio Pardo, considerando a sazonalidade e as relações entre diferentes parâmetros, e estimar o risco à saúde humana derivado da exposição aos metais.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar parâmetros limnológicos ao longo do Rio Pardo e em alguns pontos dos seus principais afluentes;
- Avaliar os níveis de metais em água superficial e sedimento do Rio Pardo e seus principais afluentes;
- Caracterizar e quantificar os parasitas e bactérias mais frequentes do Rio Pardo e seus principais afluentes;
- Realizar uma avaliação do risco para a saúde humana derivada da exposição aos metais em água superficial do Rio Pardo;
- Estimar o risco carcinogênico e não carcinogênico para a saúde humana derivado da exposição a metais por diferentes vias de absorção, utilizando como método a Análise por Simulação de Monte Carlo;
- Verificar as associações entre as variáveis e descrever as variações espaciais e sazonais na qualidade da água superficial do Rio Pardo utilizando uma abordagem estatística multivariada (PCA e HCA);

- Gerar informações e aumentar o conhecimento sobre a Bacia Hidrográfica do Pardo e a dinâmica das águas superficiais, na tentativa de identificação, prevenção e remediação de contaminações difusas e pontuais.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

O Rio Pardo tem suas nascentes no Planalto Sul de Minas (nasce na Serra do Cervo, município de Itapiúna, MG) e dirige-se para o Rio Grande acompanhando a inclinação do relevo. É o maior afluente do Rio Grande pela margem esquerda, ao qual se lança após um curso de cerca de 550 km. Apesar de nascer em Minas Gerais, 84% do seu curso desenvolve-se no Estado de São Paulo. Seu maior afluente é o Rio Mogi-Guaçu, que também nasce em território mineiro. Os principais cursos d'água integrantes da Bacia, além do Rio Pardo, são os rios Canoas (que nasce em MG) e Araraquara, e os ribeirões São Pedro, da Floresta e da Prata, pela margem direita, e os rios Tambaú, Verde e da Fartura e o Ribeirão Tamanduá, pela margem esquerda (SIGHR, 2009). A Figura 6 mostra a representação esquemática da localização das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos, no Estado de São Paulo.

Figura 6 - Representação esquemática da localização das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos, no Estado de São Paulo

3.2 Coleta das amostras

Foram realizadas um total de 9 campanhas de coleta (entre setembro de 2010 e setembro de 2012) durante as estações secas e chuvosas, sendo a coleta inicial considerada como um “piloto” e com o objetivo principal de selecionar e demarcar os pontos de amostragem. A distribuição das chuvas no Estado de São Paulo é caracterizada por dois períodos distintos: a época de seca, que se estende de abril a setembro, e a época chuvosa, com início em outubro e final em março (CETESB, 2012). A primeira coleta foi realizada no período das chuvas (março/2011). A segunda, terceira e quarta coleta foram realizadas no período de seca (entre os meses de junho e outubro/2011), já a quinta e a sexta coleta foram realizadas durante o período de chuvas (entre os meses de dezembro/2011 e fevereiro/2012). A sétima e a oitava coletas foram realizadas no período das secas (agosto/2012 e setembro 2012). A Figura 7 mostra as médias mensais de precipitação na cidade de Ribeirão Preto (mm) de 2002 a 2012.

Figura 7 - Médias mensais de precipitação na cidade de Ribeirão Preto (mm) de 2002 a 2012 (CIIAGRO, 2012)

As amostras de água e sedimento foram coletadas na nascente e ao longo do curso, até a sua afluência no Rio Grande. No curso de água foram caracterizados os pontos críticos de controle, denominados pontos de risco associados com a presença de indústrias, instituições ou

empreendimentos que possam afetar as características físico-químicas ou biológicas das águas superficiais ou do sedimento do Rio Pardo. As coordenadas dos pontos de coleta de amostra foram obtidas por GPS (*Global Positioning System*) e os mesmos pontos numerados de 1 a 12 sequencialmente ao longo do rio, sendo o Ponto 1 a nascente (Município de Ipuíúna) e o Ponto 12 a foz no Rio Grande (Município de Colômbia) (Figura 8). A Figura 9 mostra a imagem do momento da coleta de amostras no Ponto 7.

Figura 8 – Mapa hidrológico com os pontos de coleta de amostras ao longo do Rio Pardo e as coordenadas obtidas *in situ* com GPS (Global Positioning System) e imagens dos pontos de coleta 1 (Nascente), 2, 9 e 12 (Foz)

Figura 9 - Imagem do momento da coleta de amostras no Ponto 7
Fonte: (RAGAZZI, 2011)

3.3 Leitura de parâmetros limnológicos

A leitura dos parâmetros limnológicos foi realizada em todas as campanhas e no momento da coleta (*in situ*). A leitura de pH e temperatura foram realizadas pelo aparelho PH-MV-TEMP. METER da marca LT Lutron e modelo PH-206. A turbidez foi mensurada utilizando um Turbidímetro portátil da marca HANNA[®] instruments e modelo HI 93703. Para a condutividade foi utilizado um condutivímetro portátil da marca LT lutron e modelo CD - 4303 e para o teor de oxigênio dissolvido um aparelho medidor de oxigênio da marca LT lutron e modelo DO - 5510.

3.4 Análise de metais

Foram realizadas um total de 6 coletas para as dosagens das concentrações de metais (Da primeira a sexta coleta). Os materiais utilizados para coleta das amostras para as dosagens de metais foram recipientes de polietileno de 250 mL previamente submergidos em solução de ácido nítrico a 30% por 24 horas, para eliminação de metais interferentes (APHA, 1998; VOEGBORLO; EL-METHNANI; ABEDIN, 1999) e posteriormente enxaguados com água Milli-Q no Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto.

Para as águas superficiais, ácido nítrico de alta pureza (65% Suprapur-Merk, Germany) foi adicionado às amostras para fixação dos metais suspendidos, e a um pH < 2,00 as amostras foram mantidas a -18°C até o momento da dosagem, quando foram centrifugadas e levadas para a dosagem (APHA, 1998). Já para as amostras de sedimento a coleta foi feita utilizando uma draga (Draga de Ekman) e uma pá de polietileno, e após a coleta foram secadas à temperatura ambiente por 30 dias em caixas de polietileno. Após a secagem as amostras foram homogeneizadas manualmente utilizando-se espátulas de polietileno, no Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental da EERP/USP.

Para a análise das amostras de sedimento, foi utilizado o método “Extração de metais por Água Regia (HNO₃; HCL; 3:1), em bombas de teflon”, pesando aproximadamente 1,000 g de cada amostra e depois adicionando 10 mL de Água Regia. As bombas de teflon foram tampadas e deixadas em repouso por 8 horas à temperatura ambiente e logo depois levadas à estufa em temperatura de 80°C por mais 8 horas. Após o término da digestão foram filtradas com papel de filtro 12.5cm e diluídas a 25 mL com água Milli-Q. Após a digestão, as amostras de sedimento e também de água superficial foram encaminhadas para o *Laboratório de Salud Medio Ambiental y Toxicología de la Universidad Rovira i Virgili*, em Réus, Tarragona, Espanha, onde foram realizadas as dosagens de metais: Arsênico (As), Cromo (Cr), Chumbo (Pb), Estanho (Sn), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Níquel (Ni), Vanádio (V), Zinco (Zn), Berílio (Be), Cádmio (Cd), Mercúrio (Hg), Tálho (Tl), por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido (ICP-AES).

Para a análise de água de superfície a exatidão dos métodos instrumentais foi verificada por triplicação das amostras, e também por meio da leitura de material de referência certificado (*River Water Reference Material for Trace Metals, NRC Canada, SLRS-4*) realizada que a cada cinco amostras. Já para os sedimentos, materiais de referência (*Soil, Loamy clay, Resource Technology Corporation US, CRM 052*), com leituras realizadas a cada cinco amostras, foram utilizados para verificar se há desvio na sensibilidade dos instrumentos. Para cada elemento a quantificação baseou-se no isótopo mais abundante do elemento livre de interferências analíticas. Os limites de detecção para os diferentes metais estão colocados na Tabela 1.

Tabela 1 - Limites de detecção para os diferentes metais analisados ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

	Zn	Mn	As	Cr	Ni	Pb	V	Cd	Hg	Tl	Sn	Be
Limites de Detecção	0.50	0.05	0.20	0.20	0.50	0.20	0.05	0.50	0.05	0.20	0.05	0.10

3.5 Avaliação do risco para a saúde humana

Para avaliar o risco para a saúde humana por exposição ambiental aos metais o Rio Pardo foi dividido em duas zonas: Montante (pontos de coleta de 1 ao 7) e Jusante (pontos de coleta de 8 ao 12). O ponto de divisão foi determinada pela confluência do Córrego Ribeirão Preto com o Rio Pardo, localizado entre os pontos de amostragem 7 e 8. A Figura 10 mostra o mapa hidrológico com os pontos de coleta de amostras ao longo do Rio Pardo (Montante e Jusante) e as coordenadas obtidas in situ com GPS.

Figura 10 – Mapa hidrológico com os pontos de coleta de amostras ao longo do Rio Pardo (Montante e Jusante) e as coordenadas obtidas in situ com GPS.

O Córrego Ribeirão Preto corta o município mais populoso e está sob grande influência antropogênica (ALVES *et al.*, 2012). A exposição ambiental aos metais por meio da água foi avaliada levando em consideração um cenário residencial, e estimada considerando as principais vias de exposição: ingestão e contato dérmico. Também foi avaliada para dois grupos da população: adultos e crianças. As crianças, com idade de 0 a 6 anos, foram escolhidas como grupo alvo levando em conta que estão entre os grupos mais sensíveis. Já os adultos, com idade entre 18 e 64 anos, formam a parcela mais representativa da população (IBGE, 2010). Riscos não carcinogênicos e carcinogênicos foram avaliados separadamente.

A exposição aos metais via ingestão foi de acordo com USEPA (1989):

$$\text{Exping} = \frac{\text{Cw} \times \text{IR} \times \text{EF} \times \text{ED}}{\text{Bw} \times \text{AT}}$$

Sendo Exping= Concentração da exposição aos metais via ingestão (mg/Kg/dia); Cw=Concentração do composto químico na água (mg/L); IR=Taxa de ingestão de água (L/dia); EF=Freqüência de exposição (dias/ano); ED=Duração da exposição (ano); BW=Peso corpóreo (Kg); AT=Período de exposição (dias).

A exposição aos metais via contato dérmico foi de acordo com USEPA (2005):

$$\text{Expder} = \frac{\text{Cw} \cdot \text{SA} \cdot \text{Kp} \cdot \text{EF} \cdot \text{ED} \cdot \text{ET} \cdot (\text{L} / 1,000 \text{ cm}^3) \cdot (10,000 \text{ cm}^2 / \text{m}^2)}{\text{AT} \cdot \text{BW}}$$

Sendo Expder= Concentração da exposição aos metais via contato dérmico (mg/Kg/dia); Cw=Concentração do composto químico na água (mg/L); SA=Superfície de pele exposta (m²); Kp=constante de permeabilidade para cada metal (cm/h); EF=Freqüência de exposição (dias/ano); ED=Duração da exposição (ano); ET=Tempo de exposição (horas/dias); BW=Peso corpóreo (Kg); AT=Período de exposição (dias).

Para o cálculo dos riscos carcinogênicos e não carcinogênicos foram aplicadas simulações de Monte Carlo. Análise de Monte Carlo é geralmente realizada para levar em conta a

variabilidade e incerteza associada a cada parâmetro (USEPA, 1997; NADAL; SCHUHMACHER; DOMINGO, 2004). A Tabela 2 mostra os dados de entrada (*Input data*) de distribuição de Monte Carlo para a exposição ao metal.

Tabela 2 - Exemplos de parâmetros de distribuição de Monte Carlo para a exposição ao metal. Dados de entrada (*Input data*)

Parâmetro	Símbolo	Unidades	Tipe	Distribuição	Referência
Peso corpóreo Adulto	BW A	kg	Normal	67.6 ± 7.16	IBGE 2010
Peso corpóreo Criança	BW C	kg	Normal	16.1 ± 5.03	IBGE 2010
Tempo médio <i>nc</i> Adulto	AT <i>nc</i> A	dia	Lognormal	4146.4 ± 5007.8	USEPA 1996
Tempo médio <i>nc</i> Children	AT <i>nc</i> C	dia	Lognormal	4146.4 ± 5007.8 Truncado 2190.0	USEPA 1996
Tempo médio <i>ca</i>	AT <i>ca</i>	dia	Lognormal	25550	USEPA 1996
Área de superfície exposta da pele Adulto	SA A	m ²	Lognormal	1.67 ± 0.30	Calculated USEPA 1996
Área de superfície exposta da pele Criança	SA C	m ²	Triangular	0.63 (0.27-1.10)	Calculated USEPA 1996
Fração de tempo da pele exposta no Banho	ET	h.dia ⁻¹	Triangular	0.20 (0.13 - 0.33)	USEPA 1996
Frequência de exposição	EF	dia.ano ⁻¹	Triangular	345 (180 - 365)	USEPA 1996
Duração da exposição Adulto	ED A	ano	Lognormal	11.36 ± 13.72	USEPA 1996
Duração da exposição Criança	ED C	ano	Lognormal	11.36 ± 13.73 Truncado 6.00	USEPA 1996
Taxa de ingestão de água	IR	L.dia ⁻¹	Lognormal	1.26 ± 0.66	USEPA 1996

3.5.1 Riscos não carcinogênicos

O quociente de risco não carcinogênico (HQ) foi calculado dividindo-se a exposição ambiental pela dose de referência (RfD) para cada metal. O risco não carcinogênico foi calculado apenas para os metais com RfD estabelecida (Tabela 3). O HQ é uma estimativa numérica do potencial de toxicidade sistêmica de um único metal por uma única rota de exposição. O Índice de Risco (HI) foi calculado pela soma dos HQs para cada via de exposição. A HI é uma estimativa numérica do potencial de toxicidade sistêmica de todos os metais que atingem um receptor por meio de uma rota única de exposição. HIing e HIdr são estimativas numéricas do

Tabela 3 - Doses de referência para a exposição ambiental aos metais

CAS Nº		Dermal	Oral
		RfDd	RfDo
As	7440-38-2	3.00E-04	3.00E-04
Be	7440-41-7	1.40E-05	2.00E-03
Cd	7440-43-9	2.50E-05	5.00E-04
Cr	18540-29-9	7.50E-05	3.00E-03
Cu	7440-50-8	4.00E-02	4.00E-02
Hg	7439-97-6	1.60E-04	1.60E-04
Mn	7439-96-5	1.40E-01	1.40E-01
Ni	7440-02-0	8.00E-04	2.00E-02
Pb	7439-92-1	/	/
Sn	7440-31-5	6.00E-01	6.00E-01
Tl	7440-28-0	1.00E-05	1.00E-05
V	0000-06-6	5.00E-03	5.00E-03
Zn	7440-66-6	0.3	0.3

CAS: Chemical Abstracts Service

potencial de toxicidade sistêmica de todos os metais que alcançam o receptor por meio de ingestão ou contato dérmico, respectivamente. Já o HI_{total}, muitas vezes considerado uma estimativa do "risco não carcinogênico total", foi calculado pela soma dos HIs de cada via de exposição (USEPA, 1989). Quando HQ ou HI excede o nível de exposição isento de risco, pode haver preocupação com os potenciais efeitos na saúde humana, causados pela exposição a substâncias não carcinogênicas (USEPA, 1989).

3.5.2 Riscos carcinogênicos

O risco de câncer (ELCR- *Excess Lifetime Cancer Risk*) é uma estimativa do aumento da incidência de câncer (probabilidade) para um receptor, resultante da exposição a um produto químico por uma única via de exposição. Para a exposição por ingestão e contato dérmico, o ELCR foi calculado multiplicando a exposição diária pelo fator de carcinogenicidade de cada metal (SF – *Slope Factor*) estabelecido para cada uma das vias de exposição (USEPA, 2002). O risco de câncer total para todos os metais por uma única via de exposição foi calculado pela

soma dos ELCRs de todos os metais para uma única via. Por último, a incidência de câncer total para todos os metais por todas as vias de exposição, o qual é uma estimativa do aumento da incidência de câncer que resulta da exposição a todos os metais que alcançam um receptor por todas as vias, foi calculada pela soma de todos os ELCRs (USEPA, 1989).

3.6 Análise parasitológica

Foram realizadas um total de 6 coletas para as análises parasitológicas (da primeira a sexta coletas). Todas as amostras foram coletadas em frascos, previamente descontaminados; em seguida foram transferidos para cálices cônicos para a sedimentação, onde ficaram em repouso por 6 horas. Tempo suficiente para verificar a presença de qualquer forma evolutiva de parasitas, após o repouso. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, foi coletada uma porção do sedimento na camada inferior, depositando sobre uma lâmina e lamínula (40x80 mm) com uma gota de Lugol para análise microscópica; o sedimento foi analisado com auxílio de um microscópio óptico, com o aumento de 100 e 400 vezes (Nikon Eclipse E200) no Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA).

Para a análise de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* ssp. em água superficial foi utilizado o Método 1623: *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA* (USEPA, 2005a) e um total de 6 coletas (setembro/2011, fevereiro 2012/, agosto/2012) em 2 pontos diferentes (Pontos 7 e 8) no Rio Pardo.

Para a realização da análise de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* ssp. , são necessários 10 L de amostra, onde a mesma deve passar por um sistema de filtração (Filta Max) para a concentração do material.

A técnica baseia-se na filtração da amostra com um fluxo de 1 a 4 L/min. Em seguida, a esponja foi colocada em um saco plástico estéril e adicionado 400 mL de Tampão Fosfato-Salino com Tween (PBST).

A suspensão foi homogeneizada durante 5 minutos e após a homogeneização, o material foi decantado em um béquer de 2000 mL. Em seguida, foram adicionados 400 mL de PBST, homogeneizado novamente durante 5 minutos e decantado no béquer. Todo material obtido no béquer foi transferido para tubos de centrífuga cônicos (250 mL) e foram centrifugados a 2500

rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi aspirado por um sistema a vácuo, permanecendo um volume final de aproximadamente 10 mL.

Todo o sedimento foi homogeneizado no vortex e transferido para um tubo de 50 mL. Em seguida, foi centrifugado a 2500 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi aspirado por sistema a vácuo, permanecendo um volume final de aproximadamente 5 mL.

Para realizar a separação imunomagnética, foi adicionado 1,0 mL de cada tampão, SL-A 10x e SL-B 10x (Dynabeads C-Combo) e homogeneizados durante 10 segundos no vortex. Os tubos cônicos foram lavados com 2 mL de PBS contendo 0,01 % de Tween 20 (PBST) e transferidos para o tubo de Leighton contendo a respectiva amostra.

Para cada tubo de Leighton foi adicionado 100 µl de Crypto Dynabeads e colocados no agitador rotatório (*Sample Mixer*) durante 1 hora, a 18 rpm, em temperatura ambiente. Após esse período, os tubos foram transferidos para o concentrador magnético de partículas (MPC-1) e homogeneizados procedendo à agitação manual do tubo longitudinalmente num ângulo de 90° por 1 minuto e em seguida, ficaram em repouso durante 3 minutos. Passados 3 minutos, a amostra foi homogeneizada suavemente em um ângulo de 90° durante 30 segundos. Em seguida, foi descartado cuidadosamente o sobrenadante, sem retirar o tubo do MPC-1. O tubo foi retirado do MPC-1 em seguida adicionado 10 mL de PBS, do lado oposto dos beads. Gentilmente, a amostra foi homogeneizada (5 vezes) para ressuspender os beads.

O tubo foi recolocado no MPC-1 e homogeneizado suavemente em um ângulo de 90° durante 30 segundos e sem retirar do MPC-1, o sobrenadante foi descartado. Em seguida, a lavagem foi repetida mais uma vez.

Após a última lavagem, os beads foram ressuspensos em 1 mL de buffer SL-A1X utilizando pipeta Pasteur e transferidos para um tubo de microcentrifuga que foi colocado em um outro concentrador magnético (MPC-M), efetuando-se nova agitação manual durante 2 minutos em um ângulo de 180°. Em seguida, foi adicionado mais 300 µl de tampão SL-A 1X ao tubo de Leighton, transferido para o tubo eppendorf. Este, por sua vez, foi colocado MPC-M e homogeneizado em um ângulo de 180° durante 2 minutos. Logo após, o sobrenadante foi descartado, sem ser retirado do MPC-M, adicionado 100 µl de água destilada e agitado suavemente no vortex. O eppendorf foi transferido para o banho seco a 80°C por 10 minutos e agitado suavemente no vortex para assegurar-se que toda amostra estivesse no fundo do tubo.

Em seguida, o tubo foi colocado no MPC-M com a faixa magnética e o sobrenadante transferido para uma lâmina. Uma nova dissociação térmica foi realizada, identificando a lâmina como 2ª dissociação.

As lâminas ficaram secando a 35 ou 42 °C (aproximadamente 1h). Em seguida, o material foi fixado adicionando aproximadamente 10 µl de metanol (quantidade suficiente para cobrir o orifício) e ficaram secando de 3 a 5 minutos. Após a secagem, uma gota (aproximadamente 50 µl) de corante imunofluorescente (reagente Aqua-Glo G/C) foi adicionada em cada um dos poços e incubada durante 30 minutos no escuro em câmara úmida.

Posteriormente, os poços foram lavados com 100 µl de Tampão Fosfato-Salino (PBS) e o líquido aspirado cuidadosamente, sem tocar a área contendo o material.

Para a identificação de oocistos foram considerados os seguintes indicadores durante a leitura microscópica das preparações:

Imunofluorescência: Grau de fluorescência definida pela intensidade verde-maçã brilhante (comparável àquela exibida por mais de 50% dos oocistos e cistos presentes nas suspensões controles positivos). Tamanho e formato compatíveis: 4–6 µm de diâmetro para oocistos e forma esférica; para cistos, 8–12 µm e forma ovalada.

Contraste de fase: Estruturas internas analisadas em microscopia de contraste de fase: presença de estrutura para oocistos; para cistos, a presença de axonema e visualização dos núcleos (1 a 4).

Teste confirmatório utilizando 4',6-Diamidino-2-fenilindol dihidroclorídrico (DAPI): Observação dos núcleos (1 a 4) corados em azul-céu bem distintos, visualizados dentro de um único oocisto/cisto, em geral, apresentando coloração azul intensa. Para as amostras inoculadas com *Color Seed*, consideraram-se as mesmas características morfológicas, porém com fluorescência vermelha.

Teste de Eficiência da Separação Imunomagnética (IMS): Este procedimento foi aplicado como teste de eficiência para se verificar o manuseio dos equipamentos e processos na etapa de purificação com o uso da Separação Imunomagnética.

O Easy seed TM BTF (Biotechnology Frontiers Austrália): baseia-se em uma “suspensão teste” de cistos e oocistos contidos em um tubo de 5 mL, com número conhecido (100 oocistos e 100 cistos $\pm$ 1) preservados em aproximadamente 1 mL de solução salina. Para a enumeração destes oocistos e cistos, onde o desvio padrão do número de oocistos e cistos de cada tubo é menor que

2,5 é utilizada a citometria defluxo. Cada tubo é selado e esterilizado expondo cada lote a uma dose de radiação gama, garantido a estabilidade e inatividade dos organismos.

Os ensaios com água reagente foram realizados da seguinte forma: em um frasco de Easy-Seed[®] adiciona-se 2 mL de solução Tween 20 0,05%, tampa-se e agita-se vigorosamente. Retira-se a tampa e o conteúdo do tubo é despejado na amostra. Esta por sua vez é mantida no agitador magnético. Adiciona-se 3 mL de água reagente no frasco, tornando a fechá-lo e agitá-lo vigorosamente. Após este procedimento, transfere-se o conteúdo total do frasco para a amostra a ser analisada, repetindo-se esse procedimento por mais uma vez.

O Color Seed TM BTF (Biotechnology Frontiers Austrália): é uma suspensão de oocistos e cistos marcados com corante vital vermelho fluorescente, ou seja, com sulforodamina, que constitui o corante “Texas Red” (WARNECKE; WEIR; VESEY, 2003), contidos em um frasco de 5 mL, com número aproximado de (100 oocistos e 100 cistos $\pm$ 1 DP) preservados em aproximadamente 1 mL de solução salina. Para enumerar precisamente estes cistos e oocistos, onde o desvio padrão do número de cistos e oocistos de cada tubo seja menor que 2,5, foi utilizada citometria de fluxo. Cada tubo é selado e esterilizado expondo cada lote a uma dose de radiação gama, garantido a estabilidade e inatividade dos organismos.

Desta forma, por serem marcados com outro fluorocromo, são usados como “autocontrole interno” em amostras naturais, pelo fato da leitura microscópica ser realizada com filtros de diferentes comprimentos de onda, em relação ao fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (FITC). Ao fazer a leitura final da lâmina que contém a amostra natural e que também foi contaminada artificialmente com o Color Seed[®], observa-se inicialmente a presença de cistos ou oocistos que fluorescem em verde maçã brilhante (FITC). A seguir, muda-se o conjunto de filtros para o vermelho. Se o organismo fluoresce em vermelho, ele é contado como Color Seed[®], porém, se não há fluorescência em vermelho é contado como intrínseco da amostra.

Este teste foi usado nos ensaios com amostras de água superficial da seguinte forma: em um frasco de Color seed[®] adiciona-se 2 mL de solução Tween 20 0,05%, tampa-se e agita-se vigorosamente. Retira-se a tampa e transfere-se o conteúdo do frasco para a amostra. Adiciona-se 3 mL de água reagente no frasco, tornando a fechá-lo e agitá-lo vigorosamente. Após este procedimento, transfere-se o conteúdo total do frasco para a amostra a ser analisada, repetindo-se esse procedimento por mais uma vez.

Cálculo da Eficiência de Recuperação (%)

Eficiência de Recuperação dos Métodos após leitura das lâminas foi determinada de acordo com a fórmula (USEPA, 2005):

$$Y = \frac{N \times 100}{M}$$

onde,

Y = eficiência de recuperação

N = n° oocistos recuperados

M = n° oocistos semeados

3.7 Análise bacteriológica

Foram realizadas um total de 4 coletas (da quinta a oitava coletas) para a análise bacteriológica. A coleta e análise laboratorial das amostras para análise microbiológica foram realizadas de acordo com os procedimentos do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998) e da Companhia Ambiental do estado de São Paulo - CETESB (1998).

Após a coleta da água, as amostras foram analisadas (presença/ausência e quantificação) por meio da técnica dos Tubos Múltiplos (para NMP; 100 mL), utilizando substrato cromogênico (APHA, 1998).

Para análises de amostras de águas tem sido utilizado preferencialmente o fator 10 de diluição, sendo inoculados múltiplos e submúltiplos de 1 mL da amostra, usando-se séries de 3 ou 5 tubos (no presente estudo foram utilizados 5 tubos) para cada volume a ser inoculado. No momento da análise, a amostra permaneceu tampada e foi agitada aproximadamente 25 vezes. Com uma pipeta esterilizada foi transferida 10 mL da amostra para um frasco contendo 90 ± 2 mL de água destilada estéril. Desta forma foi preparada a primeira diluição decimal (10^{-1}), sendo que 1 mL da mesma corresponde a 0,1 mL da amostra; procedendo nesta sequência até obter as diluições desejadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Os tubos foram colocados em estufa a uma temperatura de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, permanecendo incubado por 24 horas (APHA, 1998).

Após a incubação foi realizada a leitura dos resultados, onde foi observada a coloração amarela se houver o desenvolvimento de Coliformes Totais e para a observação de *Escherichia coli* foi utilizado uma lâmpada ultravioleta UV de 6W de potencia e 365nm de comprimento de onda para a confirmação da fluorescência.

3.8 Análise dos dados

Com relação aos padrões de comparação para as concentrações de metais, nas águas superficiais, foram adotados os padrões de qualidade estabelecidos pela Resolução N° 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Já para a comparação das concentrações de metais, em sedimento, foram adotados os padrões de qualidade estabelecidos pelas Resoluções N° 344/2004 do Conselho Nacional do Meio Ambiente.

As concentrações de metais que apresentaram valores abaixo do limite de detecção (LD) foram consideradas como metade do valor do limite de detecção (LD/2) para a realização dos cálculos de concentração final levando em conta as diluições e conversões de unidades de medida.

Os dados foram analisados estatisticamente usando o pacote de software estatístico SPSS 14.0. O Teste de Levene foi aplicado para estudar a igualdade de variâncias quando aplicado o Teste t de Student para os dados que apresentaram distribuição normal, já para os dados que apresentaram distribuição não normal foi realizado o Teste de Mann Whitney. As correlações entre os parâmetros avaliados foram realizadas aplicando o coeficiente r de Spearman. Uma probabilidade de 0,05 ou inferior era considerada significativa ($p < 0,05$).

As simulações de Monte Carlo para a avaliação de risco foram realizadas pelo software Crystal Ball (*Decisioneering, Inc.*, Denver, CO, USA).

A análise exploratória multivariada utilizou a Análise de componentes principais (PCA) e Análise de agrupamento Hierárquica (HCA). PCA agrupou variáveis da qualidade da água (*Loadings*), e também os pontos de amostragem (*Scores*). HCA agrupou os pontos de coleta em grupos que compartilharam dados similares (distância euclidiana) de acordo com o método de Ward para a utilização de um conjunto de dados normalizados, e o método hierárquico foi o de ligação média entre grupos.

Resultados

4 RESULTADOS

Na presente seção são apresentados os resultados obtidos da leitura de parâmetros limnológicos, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade e turbidez. Também contempla os resultados obtidos das análises parasitológicas e bacteriológicas, as concentrações de metais em água superficial e sedimento, assim como a avaliação de risco derivado da exposição aos metais e os resultados da análise multivariada (PCA e HCA).

4.1 Avaliação limnológica

As tabelas 4 e 5 mostram as médias, desvios padrões e as faixas de variação dos valores de pH, Temperatura, OD, Condutividade e Turbidez durante estação chuvosa e seca, respectivamente.

Tabela 4 - Médias, desvios padrões e as faixas de variação dos valores de pH, Temperatura, OD, Condutividade e Turbidez durante estação chuvosa

Pontos de coleta	pH	Temperatura °C	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS.cm ⁻¹)	Turbidez (FTU)
1	5,2	18,9	7,1	13,7	0,2
2	5,7	19,8	7,1	33,4	62,9
3	5,9	23,0	6,8	48,7	62,3
4	6,0	24,3	6,8	56,1	36,9
5	6,3	24,9	6,9	59,9	44,3
6	5,9	24,3	5,9	56,9	58,7
7	6,3	25,2	5,6	57,4	44,5
8	6,5	26,3	6,2	63,0	36,2
9	6,6	26,6	6,4	63,1	42,2
10	6,7	26,3	7,0	62,3	38,4
11	6,6	26,4	7,2	61,6	42,9
12	6,5	26,5	4,7	59,7	35,7
Média	6,2	24,4	6,5	53,0	42,1
DP	0,4	2,6	0,8	14,9	16,5
Máximo	6,7	26,6	7,2	63,1	62,9
Mínimo	5,2	18,9	4,7	13,7	0,2

DP: Desvio Padrão

Tabela 5 - Médias, desvios padrões e as faixas de variação dos valores de pH, Temperatura, OD, Condutividade e Turbidez durante estação seca

Pontos de coleta	pH	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS.cm ⁻¹)	Turbidez (FTU)
1	5,1	18,7	6,2	12,4	/
2	6,1	17,2	6,8	36,5	20,0
3	6,2	19,6	8,8	44,7	2,5
4	6,2	20,7	9,1	48,6	2,0
5	6,3	21,3	8,1	59,2	6,1
6	6,2	21,5	8,6	59,6	6,1
7	6,3	21,9	7,5	60,8	5,7
8	6,3	22,6	7,2	64,9	7,2
9	6,3	22,9	7,2	69,5	12,1
10	6,3	22,6	8,1	72,2	13,1
11	6,2	21,5	8,0	67,2	13,2
12	5,9	21,4	6,0	64,7	15,2
Média	6,1	21,0	7,6	55,0	9,4
DP	0,4	1,7	1,0	17,1	5,7
Máximo	6,3	22,9	9,1	72,2	20,0
Mínimo	5,1	17,2	6,0	12,4	/

DP: Desvio Padrão

4.1.1 pH

Durante a estação chuvosa os valores encontrados variaram de 5,2 a 6,7 (Ponto 1 e Ponto 10, respectivamente), com uma média de 6,2, enquanto que para a estação seca os valores variaram de 5,1 a 6,3 (Ponto 1 e Pontos 5, 7, 8,9 e 10, respectivamente), com uma média de 6,1. Os valores encontrados ao longo de todo o rio para a estação chuvosa e a estação seca, quando comparados, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p>0,05$). Ao realizar a correlação entre o pH e os parâmetros limnológicos (Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Condutividade e Turbidez) usando o teste r – Spearman, foi possível verificar durante a estação chuvosa correlação significativa ($p<0,05$) positiva entre pH / Temperatura e pH / Condutividade. Já durante a estação seca foi possível verificar correlação significativa ($p<0,05$) positiva entre pH / Turbidez e pH / Condutividade.

Resultados

4.1.2 Temperatura

Durante a estação chuvosa os valores encontrados variaram de 18,9 °C a 26,6 °C (Ponto 1 e Ponto 9, respectivamente), com uma média de 24,4 °C, enquanto que para a estação seca os valores variaram de 17,2 °C a 22,9 °C (Ponto 2 e Ponto 9, respectivamente), com uma média de 21,0 °C. Os valores encontrados ao longo de todo o rio para a estação chuvosa e a estação seca, quando comparados, apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$), com maiores valores durante as chuvas. Ao realizar a correlação entre o Temperatura e os parâmetros limnológicos (pH, Oxigênio Dissolvido, Condutividade e Turbidez) usando o teste r – Spearman, foi possível verificar durante a estação chuvosa correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre Temperatura / pH e Temperatura / Condutividade. Já durante a estação seca foi possível verificar correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre Temperatura / Condutividade.

4.1.3 Oxigênio dissolvido (OD)

Durante a estação chuvosa os valores encontrados variaram de 4,7 mg.L⁻¹ a 7,2 mg.L⁻¹ (Ponto 12 e Ponto 11, respectivamente), com uma média de 6,5 mg.L⁻¹, enquanto que para a estação seca os valores variaram de 6,0 mg.L⁻¹ a 9,1 mg.L⁻¹ (Ponto 12 e Ponto 4, respectivamente), com uma média de 7,6 mg.L⁻¹. Os valores encontrados ao longo de todo o rio para a estação chuvosa e a estação seca, quando comparados, apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$), com maiores valores durante a seca. Ao realizar a correlação entre o OD e os parâmetros limnológicos (pH, Temperatura, Condutividade e Turbidez) usando o teste r – Spearman, não foi encontrada correlação significativa ($p < 0,05$) durante ambas as estações.

4.1.4 Condutividade

Durante a estação chuvosa os valores encontrados variaram de 13,7 µS.cm⁻¹ a 63,1 µS.cm⁻¹ (Ponto 1 e Ponto 9, respectivamente), com uma média de 53,0 µS.cm⁻¹, enquanto que para a

estação seca os valores variaram de $12,4 \mu\text{S.cm}^{-1}$ a $72,2 \mu\text{S.cm}^{-1}$ (Ponto 1 e Ponto 10, respectivamente), com uma média de $55,0 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Os valores encontrados ao longo de todo o rio para a estação chuvosa e a estação seca, quando comparados, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p>0,05$). Ao realizar a correlação entre a Condutividade e os parâmetros limnológicos (pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido e Turbidez) usando o teste r – Spearman, foi possível verificar durante a estação chuvosa correlação significativa ($p<0,05$) positiva entre Condutividade / pH e Condutividade / Temperatura. Já durante a estação seca foi possível verificar correlação significativa ($p<0,05$) positiva entre Condutividade / pH, Condutividade / Temperatura e Condutividade / Turbidez.

4.1.5 Turbidez

Durante a estação chuvosa os valores encontrados variaram de 0,2 FTU a 62,9 FTU (Ponto 1 e Ponto 2, respectivamente), com uma média de 42,1 unidades de turbidez formazina (FTU), enquanto que para a estação seca os valores variaram de não detectado a 20,0 FTU (Ponto 1 e Ponto 2, respectivamente), com uma média de 9,4. Os valores encontrados ao longo de todo o rio para a estação chuvosa e a estação seca, quando comparados, apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p<0,05$), com maiores valores durante as chuvas. Ao realizar a correlação entre a Turbidez e os parâmetros limnológicos (pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Condutividade) usando o teste r – Spearman, foi encontrada correlação significativa ($p<0,05$) positiva durante a estação seca entre Turbidez / pH e Turbidez / Condutividade.

4.2 Avaliação de metais

4.2.1 Concentrações de metais nas águas superficiais

A Tabela 6 mostra a média, desvio padrão e a faixa de concentração e se houve diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) entre as estações do ano para os metais avaliados em água superficial durante as estações seca e chuvosa. Alguns metais apresentaram níveis não detectados

(ND) na maioria dos pontos de coleta, sendo detectados apenas em pontos específicos do Rio Pardo explicando assim os valores máximos encontrados. Manganês e Zn apresentaram as maiores médias das concentrações na água superficial. Cádmio, Cu, Ni e o Pb mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as estações do ano, com Cd, Cu e Ni apresentando valores mais elevados durante a estação chuvosa e Pb apresentando valores mais elevados durante a estação seca.

Tabela 6 - Concentração de metais na água superficial de acordo com as estações ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Metal	ESTAÇÃO SECA				ESTAÇÃO CHUVOSA				P
	Média	DP	Min	Max	Média	DP	Min	Max	
As	ND	/	/	7.38	2.14	0.36	1.51	2.95	NS
Be	ND	/	/	0.27	ND	/	/	0.84	NS
Cd	ND	/	/	/	0.05	0.03	0.03	0.11	<0.05
Cr	ND	/	/	1.02	0.52	0.30	0.25	1.02	NS
Cu	1.77	0.65	1.02	2.81	3.28	1.05	1.31	4.90	<0.05
Hg	ND	/	/	/	ND	/	/	/	NS
Mn	26.64	19.51	3.72	73.07	46.21	41.91	8.10	151.05	NS
Ni	1.65	0.84	0.77	3.01	9.75	0.81	8.50	11.44	<0.05
Pb	3.27	8.28	0.33	29.54	1.80	1.01	0.99	4.72	<0.05
Sn	ND	/	/	0.90	ND	/	/	0.12	NS
Tl	0.17	0.09	0.09	0.39	0.09	0.12	0.03	0.46	NS
V	1.31	0.82	0.54	3.05	1.68	1.18	0.50	4.22	NS
Zn	11.61	10.77	3.02	43.51	13.30	4.04	8.32	19.56	NS

DP: Desvio Padrão; ND: Não detectado; NS: Não significante; LD: Limites de detecção

As comparações das concentrações de metais em águas superficiais entre as zonas a Montante e a Jusante são mostradas na Figura 11. Manganês e Zn apresentaram as maiores concentrações de metais. Cromo, Tl e V apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as zonas, com a média das concentrações a Montante de $0,28 \pm 0,32 \mu\text{g.L}^{-1}$ e a Jusante de $0,50 \pm 0,27 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Cr, concentrações a Montante de $0,17 \pm 0,12 \mu\text{g.L}^{-1}$ e a Jusante de $0,07 \pm 0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Tl e concentrações a Montante de $1,57 \pm 0,59 \mu\text{g.L}^{-1}$ e a Jusante de $1,52 \pm 0,28 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o V.

Figura 11 - Comparações das concentrações de metais em águas superficiais entre as zonas a Montante e a Jusante (µg.L⁻¹)

* Apresentou diferença estatisticamente significativa

4.2.2 Concentrações de metais em sedimentos

A Tabela 7 apresenta a média, desvio padrão e a faixa de concentrações dos metais em sedimentos das seis campanhas realizadas nos diferentes pontos de amostragem nas duas zonas de estudo (Montante e Jusante). Manganês apresentou as maiores médias de concentração. Ao dividir os pontos de amostragem os metais que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as duas zonas foram o Cd, Cr, Cu, Pb, Sn, V, Zn ($p < 0,05$), com médias mais elevadas na zona a Jusante, enquanto que para a divisão das campanhas de amostragem entre as estações do ano as diferenças foram estatisticamente significantes para Ni, Mn, Zn, Cu, Cd e Pb ($p < 0,05$), com valores mais elevados durante a época das chuvas para todos os metais.

Resultados

Tabela 7 - Média, desvio padrão e a faixa de concentrações dos metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$) em sedimentos das seis campanhas realizadas nos diferentes pontos de amostragem nas duas zonas de estudo (Montante e Jusante)

Metal	MONTANTE					JUSANTE					P
	LD	Média	DP	Min	Max	LD	Média	LD	Min	Max	
As	0.2	0.70	0.31	0.18	1.11	0.2	0.64	0.19	0.43	0.91	NS
Be	0.2	0.59	0.26	0.14	0.97	0.2	0.72	0.37	0.48	1.36	NS
Cd	0.05	0.04	0.02	0.01	0.07	0.05	0.06	0.02	0.04	0.09	<0.05
Cr	0.5	19.82	16.61	4.87	52.12	0.5	31.10	16.25	15.35	58.57	NS
Cu	0.2	11.59	9.80	2.01	28.52	0.2	26.35	13.36	16.19	48.51	<0.05
Hg	0.2	ND	/	/	/	0.2	ND	/	/	/	/
Mn	0.02	254.29	208.60	0.01	529.89	0.02	316.46	164.86	150.09	527.28	<0.05
Ni	0.2	5.63	4.15	1.85	13.41	0.2	7.69	3.42	5.04	13.63	<0.05
Pb	0.05	7.36	2.85	2.60	11.43	0.05	9.54	2.55	7.01	12.76	<0.05
Sn	0.1	0.07	0.03	0.02	0.11	0.1	0.10	0.03	0.06	0.13	NS
Tl	0.05	0.12	0.05	0.03	0.18	0.05	0.09	0.05	0.04	0.16	NS
V	0.02	47.40	29.07	13.60	99.72	0.02	103.02	53.02	56.35	175.21	NS
Zn	0.5	26.34	11.51	10.92	40.98	0.5	46.79	10.94	34.42	58.45	<0.05

DP: Desvio Padrão; LD: Limite de detecção; NS: Não significante

4.2.3 Risco não cancerígeno

A previsão da exposição oral (ingestão) diária e absorção dérmica de metais por meio da água (Montante e Jusante), para adultos e crianças, e o quociente de risco não carcinogênico (HQ) e índice de risco (HI) são apresentados na Tabela 8. O Tl apresentou o maior HQ derivado da exposição oral na zona a Montante, com valores de $0,46 \pm 1,92$ e $1,38 \pm 12,20$ para adultos e crianças, respectivamente. Para a zona a Jusante o maior HQ correspondeu ao As para a exposição oral, com um nível de $0,33 \pm 0,90$ e $0,93 \pm 2,14$ para adultos e crianças, respectivamente. O HI total resultante da exposição aos metais por meio da água para os adultos foi de $0,64 \pm 2,36$ e $0,66 \pm 1,75$ para a zona a Montante e a Jusante, respectivamente, enquanto que para as crianças foi de $13,90 \pm 1,87$ e $1,85 \pm 5,04$ para a zona a Montante e a Jusante, respectivamente.

Resultados

Tabela 8 - Previsão da exposição oral (ingestão) diária e absorção dérmica de metais por meio da água (Montante e Jusante), para adultos e crianças, e o quociente de risco não carcinogênico (HQ) e índice de risco (HI)

		Dérmico (Montante)				Ingestão (Montante)			
		Média	DP	HQ	DP	Média	DP	HQ	DP
ADULTO	As	1.32E-08	3.52E-08	4.39E-05	1.17E-04	4.35E-05	1.08E-04	1.45E-01	3.61E-01
	Cd	5.40E-10	1.52E-09	2.16E-05	6.08E-05	1.74E-06	3.87E-06	3.48E-03	7.74E-03
	Cr VI	6.40E-10	1.75E-09	8.54E-06	2.33E-05	2.44E-06	6.19E-06	8.13E-04	2.06E-03
	Cu	2.86E-08	6.28E-08	7.16E-07	1.57E-06	1.02E-04	2.86E-04	2.56E-03	7.15E-03
	Mn	1.93E-07	4.45E-07	1.38E-06	3.18E-06	6.71E-04	1.79E-03	4.80E-03	1.28E-02
	Ni	5.71E-08	1.25E-07	7.14E-05	1.57E-04	1.99E-04	5.23E-04	9.93E-03	2.62E-02
	Sn	7.73E-10	1.69E-09	1.29E-09	2.82E-09	2.77E-06	7.05E-06	4.62E-06	1.18E-05
	Tl	1.28E-09	2.55E-09	1.28E-04	2.55E-04	4.58E-06	1.92E-05	4.58E-01	1.92E+00
	V	1.39E-08	3.18E-08	2.78E-06	6.35E-06	4.83E-05	1.14E-04	9.67E-03	2.27E-02
	Zn	1.21E-07	3.22E-07	4.03E-07	1.07E-06	4.05E-04	9.49E-04	1.35E-03	3.16E-03
			Hlder	2.79E-04	6.25E-04	Hling			6.36E-01 2.36E+00
HItotal	6.36E-01 ± 2.36E+00								
CRIANÇA	As	1.40E-08	2.86E-08	4.67E-05	9.54E-05	1.21E-04	4.24E-04	4.02E-01	1.41E+00
	Cd	6.01E-10	1.35E-09	2.41E-05	5.42E-05	4.93E-06	1.00E-05	9.86E-03	2.00E-02
	Cr VI	7.78E-10	7.09E-09	1.04E-05	9.45E-05	7.03E-06	1.45E-05	2.34E-03	4.84E-03
	Cu	3.22E-08	6.03E-08	8.06E-07	1.51E-06	2.84E-04	5.00E-04	7.10E-03	1.25E-02
	Mn	2.24E-07	4.47E-07	1.60E-06	3.19E-06	1.89E-03	3.59E-03	1.35E-02	2.56E-02
	Ni	6.26E-08	1.49E-07	7.82E-05	1.86E-04	5.45E-04	2.03E-03	2.73E-02	1.01E-01
	Sn	8.07E-10	4.43E-09	1.34E-09	7.39E-09	8.02E-06	5.67E-05	1.34E-05	9.45E-05
	Tl	1.49E-09	2.88E-09	1.49E-04	2.88E-04	1.38E-05	1.22E-04	1.38E+00	1.22E+01
	V	1.51E-08	2.93E-08	3.01E-06	5.86E-06	1.41E-04	4.48E-04	2.81E-02	8.96E-02
	Zn	1.37E-07	5.42E-07	4.57E-07	1.81E-06	1.18E-03	6.45E-03	3.93E-03	2.15E-02
			Hlder	3.14E-04	7.30E-04	Hling			1.87E+00 1.39E+01
HItotal	1.87E+00 ± 1.39E+01								
		Dérmico (Jusante)				Ingestão (Jusante)			
		Média	DP	HQ	DP	Média	DP	HQ	DP
ADULTOS	As	2.76E-08	6.28E-08	9.19E-05	2.09E-04	1.00E-04	2.71E-04	3.34E-01	9.03E-01
	Cd	1.13E-09	3.45E-09	4.52E-05	1.38E-04	3.62E-06	8.86E-06	7.23E-03	1.77E-02
	Cr VI	7.14E-10	1.72E-09	9.52E-06	2.29E-05	2.50E-06	8.02E-06	8.33E-04	2.67E-03
	Cu	3.16E-08	6.91E-08	7.90E-07	1.73E-06	1.11E-04	3.13E-04	2.79E-03	7.83E-03
	Mn	3.62E-07	8.82E-07	2.58E-06	6.30E-06	1.23E-03	3.03E-03	8.82E-03	2.17E-02
	Ni	6.95E-08	1.66E-07	8.69E-05	2.07E-04	2.47E-04	6.24E-04	1.23E-02	3.12E-02
	Sn	2.64E-09	5.88E-09	4.40E-09	9.80E-09	8.83E-06	2.45E-05	1.47E-05	4.08E-05
	Tl	8.03E-10	1.71E-09	8.03E-05	1.71E-04	2.83E-06	7.33E-06	2.83E-01	7.33E-01
	V	1.68E-08	3.78E-08	3.35E-06	7.55E-06	5.74E-05	1.50E-04	1.15E-02	3.01E-02
	Zn	1.80E-07	4.71E-07	6.00E-07	1.57E-06	5.81E-04	1.47E-03	1.94E-03	4.91E-03
			Hlder	3.21E-04	7.66E-04	Hling			6.62E-01 1.75E+00
HItotal	6.62E-01 ± 1.75E+00								

CRIANÇA	As	2.92E-08	2.32E-07	9.75E-05	7.73E-04	2.79E-04	6.41E-04	9.30E-01	2.14E+00
	Cd	1.10E-09	7.88E-09	4.39E-05	3.15E-04	9.24E-06	1.03E-04	1.85E-02	2.05E-01
	Cr VI	7.81E-10	2.38E-09	1.04E-05	3.18E-05	6.93E-06	1.49E-05	2.31E-03	4.95E-03
	Cu	3.73E-08	1.04E-07	9.32E-07	2.59E-06	2.99E-04	8.78E-04	7.47E-03	2.20E-02
	Mn	3.96E-07	7.31E-07	2.83E-06	5.22E-06	3.27E-03	1.67E-02	2.34E-02	1.19E-01
	Ni	7.98E-08	2.37E-07	9.97E-05	2.97E-04	6.81E-04	1.68E-03	3.40E-02	8.39E-02
	Sn	2.96E-09	8.31E-09	4.93E-09	1.39E-08	1.71E-04	1.46E-02	2.85E-04	2.43E-02
	Tl	9.03E-10	1.91E-09	9.03E-05	1.91E-04	7.96E-06	2.30E-05	7.96E-01	2.30E+00
	V	1.74E-08	7.79E-08	3.49E-06	1.56E-05	1.61E-04	6.44E-04	3.23E-02	1.29E-01
	Zn	1.92E-07	4.29E-07	6.39E-07	1.43E-06	1.67E-03	5.32E-03	5.57E-03	1.77E-02
HI _{der}			3.50E-04	1.63E-03	HI _{ing}		1.85E+00	5.04E+00	
HI _{total}	1.85E+00 ± 5.04E+00								
DP: Desvio Padrão; Quociente de Risco; HI: Índice de Risco.									

4.2.4 Risco cancerígeno

Os valores de carcinogenicidade foram relatados apenas para As, Cd e Cr (VI), entre os treze químicos-alvo do presente estudo. A distribuição do risco por meio da ingestão e absorção dérmica para os adultos na zona a Montante e a Jusante para As são resumidas na Tabela 9. Levando-se em conta que não são atribuídos fatores de carcinogenicidade (SF – *Slope Factor*) ao Cd por via dérmica e oral (USEPA, 2009) e a USEPA classifica o Cr (VI) como um carcinogênico humano apenas pela via de inalação, a avaliação do risco carcinogênico para estes metais não foi incluída no estudo. O risco cancerígeno para a exposição ao As na zona a Montante foi estimado em cerca de $4.27 \cdot 10^{-6} \pm 6.68 \cdot 10^{-6}$ e $1.22 \cdot 10^{-9} \pm 1.70 \cdot 10^{-9}$ por meio da absorção oral e dérmica da água, respectivamente, enquanto que na a zona a Jusante foi estimado em cerca de $9.61 \cdot 10^{-6} \pm 1.54 \cdot 10^{-5}$ e $2.86 \cdot 10^{-9} \pm 4.86 \cdot 10^{-9}$ por meio da absorção oral e dérmica de água, respectivamente.

Tabela 9 - Distribuição do risco carcinogênico por meio da ingestão e absorção dérmica para os adultos na zona a Montante e a Jusante para As

			<i>SF (mg/kg·d)</i>	<i>Média</i>	±	<i>DP</i>
Oral	Montante	As	1.5E+00	4.27E-06	±	6.68E-06
Dérmico	Montante	As	1.5E+00	1.22E-09	±	1.70E-09
<i>ELCR Montante</i>				4.34E-06	±	6.80E-06
Oral	Jusante	As	1.5E+00	9.61E-06	±	1.54E-05
Dérmico	Jusante	As	1.5E+00	2.86E-09	±	4.86E-09
<i>ELCR Jusante</i>				9.69E-06	±	1.56E-05

SF: Fator de carcinogenicidade (*Slope factor*); DP: Desvio Padrão; ELCR: Risco de Câncer (*Excess Cancer Incidence*)

4.3 Análise parasitológica

A técnica aplicada para a análise parasitológica ao longo de todo o rio identificou, embora em pequenos números, a presença de *Entamoeba coli*, *Hymenolepis diminuta* e *Strongyloides stercoralis*. A Figura 12 mostra um *Strongyloides stercoralis* encontrada durante a segunda coleta.

Figura 12 – Imagem de *Strongyloides stercoralis* encontrada durante a segunda coleta

Já com relação aos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* ssp. avaliados nos pontos 7 e 8 foram encontradas as presenças de oocistos e cistos na água superficial. Cistos de

Resultados

Giardia spp. foram encontrados em maior número que oocistos de *Cryptosporidium spp.* (19 cistos.L⁻¹ e 10 oocistos.L⁻¹, respectivamente). Tanto a média de oocistos de *Cryptosporidium spp.* quanto a média de cistos de *Giardia spp.* por litro apresentaram maiores valores no ponto 7 (0,23 oocistos.L⁻¹ e 3,37 cistos.L⁻¹, respectivamente) (Tabela 10).

Tabela 10 - Quantidade de cistos de *Giardia spp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.* por litro de água superficial coletada

	<i>Cryptosporidium spp.</i> (Oocisto.L ⁻¹)	<i>Giardia spp.</i> (Cisto.L ⁻¹)	
Ponto 7	0,30	1,10	Coleta 1
	0,00	0,80	Coleta 2
	0,40	8,20	Coleta 3
Média	0,23	3,37	
Mínimo	0,00	0,80	
Máximo	0,40	8,20	
Ponto 8	0,30	7,50	Coleta 1
	0,00	0,40	Coleta 2
	0,00	1,00	Coleta 3
Média	0,10	2,97	
Mínimo	0,00	0,40	
Máximo	0,30	7,50	

A Figura 13 apresenta a comparação entre os números de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* encontrados nos pontos de coleta 7 e 8. A Figura 14 mostra imagens microscópicas de oocistos de *Cryptosporidium* (seta maior) e cistos de *Giardia* (seta menor) identificados na água superficial do Rio Pardo. (A) Imunofluorescência; (B) DAPI; (C) Contraste de fases.

Figura 13 - Comparação entre os números de cistos de *Giardia* (cisto.L⁻¹) e oocistos de *Cryptosporidium* (Oocisto.L⁻¹) encontrados nos pontos de coleta 7 e 8

Figura 14 - Imagens microscópicas de oocistos de *Cryptosporidium* (seta maior) e cistos de *Giardia* (seta menor) identificados na água superficial do Rio Pardo. (A) Imunofluorescência; (B) DAPI; (C) Contraste de fases

Para a validação do método para a análise de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. e avaliação da resposta da amostra para a aplicação da técnica foram empregados os testes *Easy Seed* e *Color Seed*, respectivamente, e a média dos valores encontrados estão colocados na Tabela 11.

Tabela 11 - Média dos valores (%) dos testes *Easy Seed* e *Color Seed* para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.

	<i>Cryptosporidium</i> spp. (%)	<i>Giardia</i> spp. (%)
<i>Easy Seed</i>	32,5	43
<i>Color Seed</i>	34,5	52,5
Média	33,5	47,75

4.4 Análise microbiológica

4.4.1 Coliformes totais

A tabela 12 mostra as médias, desvios padrões e a faixas de variação dos valores encontrados para Coliformes totais em NMP/100 mL. Para os valores de Coliformes totais não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as estações seca e chuvosa, embora a média dos valores tenha sido maior na estação seca ($7,5E+04$).

Tabela 12 - Média, desvio padrão e a faixas de variação dos valores encontrados para Coliformes totais em NMP/100 mL

	Coliformes Totais (chuva)	Coliformes Totais (seca)
Pontos de coleta		
1	1,80E+02	2,50E+02
2	2,95E+05	5,70E+05
3	1,45E+04	8,50E+03
4	5,05E+03	1,27E+04
5	9,45E+03	3,70E+03
6	1,10E+04	5,50E+03
7	4,10E+04	1,05E+05
8	8,15E+04	4,90E+04
9	6,65E+03	6,00E+04
10	8,95E+03	4,75E+04
11	8,15E+03	1,62E+04
12	1,10E+04	1,90E+04
Média	4,10E+04	7,48E+04
Máximo	2,95E+05	5,70E+05
Mínimo	1,80E+02	2,50E+02
DP	8,31E+04	1,59E+05

O ponto 2 apresentou os maiores valores em ambas as estações (3,0E+05 na estação chuvosa e 5,7E+05 na estação seca). Com a exceção do ponto 2, durante a estação chuvosa os pontos 7 e 8 apresentaram os valores mais elevados (4,1E+04 e 8,2E+04, respectivamente), enquanto que durante a estação seca os pontos 7, 8, 9 e 10 apresentaram os valores mais elevados (1,1E+05, 4,9E+04, 6,0E+04 e 4,8E+04, respectivamente). O ponto 1 (nascente) apresentou as menores médias para ambas as estações (1,8E+02 para a estação chuvosa e 2,58E+02 para a estação seca). Ao realizar a correlação entre os coliformes totais e os parâmetros limnológicos (pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Condutividade e Turbidez) usando o teste $r - \text{Spearman}$, foi possível verificar durante a estação chuvosa correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre Coliformes Totais / pH. Durante a estação seca foi possível verificar correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre Coliformes Totais / Turbidez.

A Figura 15 mostra o perfil da distribuição dos valores encontrados para Coliformes totais (NMP/100 mL) ao longo do Rio Pardo.

Figura 15 – Perfil da distribuição dos valores encontrados para Coliformes totais (NMP/100 mL) ao longo do Rio Pardo

4.4.2 *E. coli*

A tabela 13 mostra as médias, desvios padrões e a faixas de variação dos valores encontrados para *E. coli* em NMP/100 mL. Para os valores de *E. coli* foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as estações seca e chuvosa, com a média dos valores maior durante a estação chuvosa ($3,0E+03$).

Tabela 13 - Média, desvio padrão e a faixas de variação dos valores encontrados para *E. coli* em NMP/100 mL

	<i>E. coli</i> (chuva)	<i>E. coli</i> (seca)
Pontos de coleta		
1	< 1,8	< 1,8
2	2,00E+04	9,70E+03
3	1,20E+03	3,00E+01
4	7,15E+02	2,00E+01
5	4,75E+02	3,00E+01
6	3,60E+02	3,00E+01
7	4,80E+03	3,67E+03
8	6,60E+03	3,50E+02
9	1,20E+03	2,35E+02
10	2,15E+02	2,00E+02
11	3,10E+02	6,00E+01
12	4,50E+01	8,00E+01
Média	3,27E+03	1,31E+03
Máximo	2,00E+04	9,70E+03
Mínimo	< 1,8	< 1,8
DP	5,94E+03	2,98E+03

O ponto 2 apresentou os maiores valores em ambas as estações (2,0E+04 na estação chuvosa e 9,7E+03 na estação seca). Com a exceção do ponto 2, durante a estação chuvosa os pontos 7 e 8 apresentaram os valores mais elevados (4,8E+03 e 6,6E+03, respectivamente), enquanto que durante a estação seca o ponto 7 apresentou o valor mais elevados (3,7E+03). O ponto 1 (nascente) apresentou as menores médias para ambas as estações (< 1,8 para a estação chuvosa e seca). Ao realizar a correlação entre os *E. coli* e os parâmetros limnológicos (pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Condutividade e Turbidez) usando o teste $r - \text{Spearman}$, não foi possível verificar durante a estação chuvosa correlação significativa ($p < 0,05$). Durante a estação seca foi possível verificar correlação significativa ($p < 0,05$) positiva entre *E. coli* / Turbidez.

A Figura 16 mostra o perfil da distribuição dos valores encontrados para *E. coli* (NMP/100mL) ao longo do Rio Pardo.

Figura 16 – Perfil da distribuição dos valores encontrados para *E. coli* (NMP/100mL) ao longo do Rio Pardo

4.5 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi aplicada ao conjunto de dados relativos à água superficial. A Tabela 14 mostra a matriz de correlação das 13 variáveis utilizadas para a PCA. Algumas variáveis foram excluídas por não satisfazerem alguns requisitos básicos exigidos para uma melhor análise ou apresentarem concentrações abaixo dos limites de detecção dos métodos utilizados nas dosagens, caso de alguns metais.

A PCA mostrou que aproximadamente 75% da variação dos dados em 13 variáveis é explicada por quatro componentes principais, contudo as três primeiras componentes explicaram mais de 60% da variação dos dados. A primeira componente principal (PC 1) explicou aproximadamente 26% da variação dos dados, enquanto que a PC 2 explicou aproximadamente 23%, a PC 3 13% e a PC 4 também 13% das variações dos dados.

De acordo com a matriz de componentes rotacionada apresentada na Tabela 15 podemos ver Cd, Pb e Sn entre as variáveis que mais contribuíram para a PC 1; Cu, Ni, OD e Turbidez para a PC 2; Cr e V para a PC 3; e pH, Tl e Condutividade para a PC 4.

Resultados

Tabela 14 - Matriz de correlação das 13 variáveis utilizadas para a PCA.

	pH	Cu	Cr	Ni	Pb	V	Cd	Tl	Sn	OD	Turbidez	<i>E. coli</i>	Condutividade
pH	1,000												
Cu	,495	1,000											
Cr	,144	,369	1,000										
Ni	,271	,482	-,105	1,000									
Pb	-,023	,108	,364	,017	1,000								
V	,188	,322	<u>,834</u>	-,093	-,028	1,000							
Cd	-,043	,066	,375	,036	<u>,970</u>	-,013	1,000						
Tl	-,139	-,199	-,013	-,080	-,002	,203	,021	1,000					
Sn	-,034	-,004	,316	-,057	<u>,975</u>	-,073	<u>,956</u>	-,007	1,000				
OD	-,203	-,433	-,170	<u>-,608</u>	-,018	-,250	-,041	-,058	,036	1,000			
Turbidez	,343	,472	,231	<u>,599</u>	-,092	,284	-,052	-,184	-,172	-,391	1,000		
<i>E. coli</i>	-,024	-,076	-,042	,115	-,056	,156	-,080	,000	-,069	-,119	,211	1,000	
Condutividade	<u>,629</u>	,347	,256	,010	,091	,149	,081	-,485	,098	-,008	,118	-,234	1,000

Maiores correlações, positivas e negativas, estão sublinhadas e em negrito.

Tabela 15 – Matriz de componentes rotacionada

	Componentes			
	1	2	3	4
pH	-,082	,389	,190	<u>,610</u>
Cu	,042	<u>,660</u>	,307	,376
Cr	,318	,062	<u>,893</u>	,132
Ni	,027	<u>,903</u>	-,239	,037
Pb	<u>,989</u>	,018	,067	,020
V	-,090	,120	<u>,970</u>	-,025
Cd	<u>,982</u>	,035	,076	-,010
Tl	-,030	,034	,223	<u>-,793</u>
Sn	<u>,984</u>	-,075	,027	,023
OD	-,017	<u>-,800</u>	-,145	,134
Turbidez	-,114	<u>,694</u>	,192	,233
E_coli	-,055	,099	,072	-,103
Condutividade	,061	,023	,185	<u>,862</u>

Maiores correlações, positivas e negativas, estão sublinhadas e em negrito.

A Figura 17 mostra o gráfico de *Loadings* (composição das PCs em relação às variáveis). O gráfico de *Scores* (composição das PCs em relação às amostras) é apresentado na Figura 18. Destacados no gráfico estão alguns agrupamentos das amostras em relação à composição das componentes principais (PCs) formadas.

Figura 17 - Gráfico 2D dos *Loadings* gerados pela PCA. (a): *Loadings* PC1 X PC2. (b): *Loadings* PC3 X PC4.

Figura 18 - Gráfico 2D dos *Scores* gerados pela PCA e os principais agrupamentos identificados. (a): *Scores* PC1 X PC2. (b): *Scores* PC3 X PC4

4.6 Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)

A análise hierárquica de agrupamentos foi aplicada às amostras de água superficial dos 12 pontos de coleta durante as diferentes épocas do ano (chuvas e seca). A Figura 19 mostra o dendograma com os 3 principais agrupamentos formados (I, II, III) e seus subagrupamentos.

Figura 19 - Dendograma com os 3 principais agrupamentos formados (I, II, III) e seus subagrupamentos

Discussão

5 DISCUSSÃO

No Brasil é adotado o enquadramento por classes para os corpos d'água, as quais são estabelecidas conforme os usos a que se destinam. Para cada classe existem padrões de qualidade da água que são estabelecidos para atender não somente a condição atual da qualidade da água, mas também a qualidade que o corpo d'água deveria possuir para atender os usos desejados pela sociedade (ANA, 2012). Na presente discussão serão levados em conta os padrões estabelecidos pela legislação nacional responsável por esse enquadramento (Resolução CONAMA nº 357/2005) para a avaliação da qualidade das águas do Rio Pardo.

De acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005 e SIGRH (2010), o Rio Pardo é um corpo de água doce pertencente à classe 2, localizado em uma bacia hidrográfica com grande contingente populacional e de economia centrada no setor agrícola, com a forte predominância da agro-indústria sucro alcooleira, seguida da citricultura e outras atividades agropecuárias, não menos importantes, o que mostra a importância da avaliação do corpo hídrico frente às destinações da água e atividades da classe no qual o Rio Pardo está enquadrado.

A Resolução CONAMA N°357/2005 classifica as águas doces em classe especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4.

A classe especial caracteriza águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

A classe 1, são águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA N° 274, de 2000; à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

Na classe 2, enquadra-se corpos de água destinados ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA N° 274, de 2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de

esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e à aquicultura e à atividade de pesca.

A classe 3, inclui águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; à dessedentação de animais.

Na classe 4, estão categorizadas águas que podem ser destinadas à navegação; e à harmonia paisagística.

5.1 Avaliação limnológica

O monitoramento de parâmetros físico-químicos em recursos hídricos, para avaliar a qualidade da água e identificar deficiências, é importante para a proteção do meio ambiente e da saúde pública (OKOH *et al.*, 2007). Avaliação da qualidade físico-química de corpos de superfície pode amplamente refletir a carga de poluição e pressão antrópica sobre os sistemas de águas superficiais (CHIGOR; SIBANDA; OKOH, 2013).

5.1.1 pH

As médias dos valores de pH das amostras de água superficial apresentaram valores, em ambas as estações, que não se encontram dentro dos limites preconizados pela Resolução CONAMA N° 357 / 2005. A legislação nacional estabelece para as águas doces, Classes 1, 2 e 3, limites de pH de 6 a 9 (BRASIL, 2005). Durante a estação chuvosa os pontos 1, 2, 3 e 6 apresentaram valores inferiores a 6,0, enquanto que para a estação seca os pontos 1 e 12 apresentaram valores inferiores a 6,0 (Figura 20). Em nenhum momento foram registrados valores superiores a 9,0.

Figura 20 – Valores de pH ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca

O ponto 1 (nascente) provavelmente apresentou valores mais baixos (ácidos) para o pH devido à decomposição da matéria orgânica (folhas e galhos) presente no local, ou também por contribuição geológica da região. O pH das águas naturais é governado pelo equilíbrio de carbonato-bicarbonato-dióxido de carbono. O pH ligeiramente alcalino é preferível em águas, pois os metais são removidos por precipitados de carbonato ou bicarbonato (AHIPATHY; PUTTAIAH, 2006).

5.1.2 Temperatura

A temperatura apresentou maiores leituras durante a estação chuvosa, como era esperado, considerando nesse período se concentram os dias mais quentes do ano no Estado de São Paulo, o que pode explicar a diferença encontrada entre as estações avaliadas, assim como a relação da temperatura ambiental com a do corpo hídrico. A Figura 21 mostra as médias mensais da temperatura no município de Ribeirão Preto no período de 01/08/2002 a 01/08/2012. As diferenças de valores entre os pontos de coleta (Tabelas 4 e 5) podem ter ocorrido pela hora do dia, já que as campanhas de coleta eram iniciadas no período da manhã e terminavam no final da tarde.

Figura 21 – Médias mensais da temperatura no município de Ribeirão Preto no período de 01/08/2002 a 01/08/2012 (CIIAGRO, 2012)

Importante destacar também que a menor temperatura foi encontrada na nascente (Ponto 1) (Figura 22), local protegido pela presença de mata ciliar e localizado a uma maior altitude. Chigor et al. (2013) em estudo realizado no Buffalo River, África do Sul, também encontraram valores para a Temperatura amplamente determinados pela estação e altitude.

Figura 22 – Valores da Temperatura ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca (°C)

5.1.3 Oxigênio dissolvido (OD)

A Resolução CONAMA Nº 357 / 2005 estabelece para as águas doces Classe 2 valores de OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg.L^{-1} (Brasil, 2005). O ponto de coleta 12 foi o único que apresentou média das leituras inferior ($4,7 \text{ mg.L}^{-1}$) ao estabelecido pela legislação nacional, e somente durante a estação chuvosa (Figura 23). A diferença encontrada nos valores de OD entre as estações pode ser explicada pela influência das chuvas devido ao maior aporte de matéria orgânica no corpo hídrico durante esse período.

Figura 23 – Valores de OD ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca (mg.L^{-1})

O teor de oxigênio dissolvido é um dos mais importantes fatores na saúde de um corpo hídrico. Sua deficiência afeta diretamente o ecossistema, devido à bioacumulação e biomagnificação. Em amostras de água o OD depende de uma série de atividades físicas, químicas, biológicas e microbiológicas (YANG *et al.*, 2007). Em um estudo em que foram avaliadas as características da qualidade da água ao longo do Rio Huangpu, na China, foram encontrados maiores valores de OD no inverno (que também apresenta menores temperaturas e seca) do que no verão. No presente estudo os valores foram baixos no verão possivelmente devido à alta temperatura da água e considerável atividade de microrganismos, que consumiram apreciável quantidade de oxigênio, como resultado de atividades metabólicas e consumo de matéria orgânica (ANTONOPOULOS; GIANNIOU, 2003; YANG *et al.*, 2007; RIXEN *et al.*, 2010).

Discussão

5.1.4 Condutividade

A legislação nacional não estabelece valores para a condutividade. Em geral, níveis superiores a $100 \mu\text{S.cm}^{-1}$ indicam ambientes impactados (CETESB, 2009). Em nenhum ponto foram encontrados valores superiores a $100 \mu\text{S.cm}^{-1}$, indicando que o Rio Pardo, de acordo com esse parâmetro, é um corpo hídrico pouco impactado. Tanto no período de chuva quanto no período de seca foram registrados os maiores valores para a condutividade a partir do ponto de coleta 8, provavelmente por receber mais descargas de efluentes ao passar pela região mais populosa e também pela confluência de outros tributários (Figura 24).

Figura 24 – Valores de Condutividade ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)

Para Esteves (2011) a condutividade elétrica, que depende da composição iônica dos corpos d'água, pode ser influenciada, também pelo volume de chuvas. Com baixa precipitação e predominância de rochas magmáticas na bacia de drenagem, a composição iônica da água é, geralmente, determinada por produtos de intemperismo destas rochas. Com alta pluviosidade e predominância de rochas sedimentares, a composição iônica da água é determinada pela composição das rochas. Por depender das concentrações iônicas e da temperatura, e indicar a quantidade de sais existentes na coluna d'água, a condutividade representa uma medida indireta da concentração de poluentes. Isso pode explicar o aumento gradativo desse parâmetro ao longo do rio conforme percorre áreas urbanas e agrícolas.

5.1.5 Turbidez

O valor para Turbidez estabelecido pela Resolução CONAMA Nº 357 / 2005 é de até 100 FTU para rios Classe 2. As médias dos valores encontrados não foram superiores ao preconizado pela legislação nacional (Figura 25). No presente estudo a diferença encontrada entre os valores de Turbidez durante as diferentes estações (Tabelas 4 e 5) provavelmente está relacionada com a pluviosidade, pois no período das chuvas ocorre um maior escoamento das águas das chuvas que causam uma lavagem do solo e assim carreiam mais sedimentos para o corpo hídrico, aumentando a Turbidez.

Figura 25 – Valores de Turbidez ao longo do Rio Pardo, nos 12 pontos de coleta durante as estações chuvosa e seca (FTU)

A turbidez é uma medida da quantidade de partículas coloidais em suspensão. Mesmo as taxas de vazão do rio alteram a turbidez, e o aumento da turbidez indica um maior estado de poluição de um corpo hídrico. Água límpida isenta de turbidez é importante quando ela se destina direta ou indiretamente ao consumo humano ou processos industriais, sendo que, turbidez acima de 5 FTU além de ser notada pelo consumidor e representar uma condição insatisfatória, dificulta o processo de desinfecção/esterilização por tratamento com radiação U.V. (APRILE; SIQUEIRA, 2011).

5.2 Avaliação de metais

5.2.1 Concentração de metais na água e sedimentos

Os padrões de qualidade referentes aos metais em água superficial e estabelecidos para os rios Classe 2 são os mesmos utilizados para os rios Classe 1 (CONAMA, 2005), logo serão observadas os padrões de qualidade para rios Classe 1 (Tabela 16). Quanto aos sedimentos, a Resolução CONAMA N° 344/2004 estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas brasileiras e estabelece limiares de metal ou material dragado dividido em dois níveis, 1 e 2 (Tabela 16). Nível 1 define o limite com baixa probabilidade de efeitos adversos à biota, enquanto o nível 2 define o limite que proporciona um efeito adverso provável sobre a biota.

Tabela 16- Padrões de qualidade estabelecidos pela legislação brasileira para metais em água superficial e sedimento ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

	CONAMA 344 (sedimento)		CONAMA 357 (água)
	Nível 1	Nível 2	Classe 1
As	5.90	17.00	10.00
Be	/	/	40.00
Cd	0.60	3.50	1.00
Cr	37.30	90.00	50.00
Cu	35.70	197.00	9.00
Hg	0.17	0.49	0.20
Mn	/	/	100.00
Ni	18.00	35.90	25.00
Pb	35.00	91.30	10.00
Sn	/	/	/
Tl	/	/	/
V	/	/	100.00
Zn	123	315	180

Em comparação aos padrões de qualidade estabelecidos pelo CONAMA n° 357/2005, as concentrações dos metais analisados na água superficial estão em conformidade com a legislação

Discussão

brasileira (Tabela 6). Os resultados das análises dos sedimentos mostraram que todos os metais apresentaram as médias das concentrações de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 344/2004, embora Cu e Cr tenham apresentado, em alguns pontos, níveis mais elevados do que os estabelecidos pelo CONAMA No 344/2004 para o nível 1 (Tabela 7). Apesar da Resolução CONAMA nº 344/2004 estabelecer padrões para sedimentos dragados, esses valores fornecem um parâmetro muito razoável para os sedimentos coletados em áreas não dragadas, mas impactadas por atividades antrópicas.

Muitos corpos de água doce podem apresentar concentrações elevadas de Mn. Manganês apresentou a maior média de concentração em água superficial e sedimento, podendo estar presente na água como resultado de processos naturais envolvendo tanto a erosão como dissolução de minerais contendo Mn, por meio de reações de oxirredução na interface água-sedimento ou próximo a ela (ABESSER; ROBINSON, 2010; ANTWEILER; TAYLOR; ALPERS, 2012). Com exceção do Mn, Zn apresentou a maior média de concentração na água superficial ($11,61 \pm 10,77$ mg/L durante a estação seca e $13,30 \pm 4,04$ mg/L durante a estação chuvosa) (Tabela 6). Maiores concentrações de Zn em áreas com atividade da cana-de-açúcar pode ser atribuída à sua ampla utilização em fertilizantes. No Brasil, as maiores concentrações de zinco em áreas com cultivo de cana-de-açúcar também podem estar relacionadas às queimadas, um processo comum nesta atividade agrícola (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO; DOS SANTOS, 2008), e de acordo com Bhardwaj et al. (2010), na Índia, altos valores de Zn podem ser ligados aos fungicidas à base de Zn.

Os valores mais elevados durante a época das chuvas para Ni, Mn, Zn, Cu, Cd e Pb em sedimento podem ser explicados devido aos metais contidos no solo alcançarem o rio com as águas das chuvas (YÜZEREROĞLU *et al.*, 2010; DUMAN; KAR, 2012). Esta diferença significativa na concentração de metais é incomum durante este curto período de amostragem.

O Chumbo, ao contrário de outros metais, não apresentou maior média de concentração durante a estação chuvosa. Possivelmente por uma fonte pontual de contaminação, fato constatado pelo valor encontrado ($29,54 \mu\text{g.L}^{-1}$) em uma única campanha, durante a estação seca, no ponto de amostragem 8 (Tabela 6). O Pb é um constituinte da crosta terrestre e ocorre naturalmente no solo e na água. Também pode se originar de processamento de metais, indústrias

de galvanoplastia, efluentes industriais e esgotos domésticos (RAVIRAJA *et al.*, 2008; YI; YANG; ZHANG, 2011).

As diferenças entre as concentrações de Cd, Cr, Cu, Pb, Sn, V e Zn, no sedimento das zonas a Montante e a Jusante (Tabela 7), podem estar associadas a uma maior influência antropogênica no segundo trecho do rio (VEGA *et al.*, 1998; LI; ZHANG, 2010). Esse trecho do rio passa por uma área mais populosa, concentra maior número de atividades industriais e comerciais, além de já ter recebido maior número de afluentes.

5.2.2 Riscos não carcinogênicos

No que diz respeito ao risco não carcinogênico não foram encontradas diferenças importantes na ingestão de metal e absorção dérmica entre adultos e crianças e também entre as duas diferentes zonas, Montante e Jusante. Em geral, a exposição oral aos metais por meio da ingestão de água foi maior do que para a absorção dérmica (Tabela 8).

É importante destacar que os valores de HQ apresentaram altos desvios padrões, e, portanto, maior heterogeneidade dos dados. Alguns valores do HQ total e HI mostraram-se acima do nível de segurança 1.0, visto o HQ do Tl resultante da exposição oral (ingestão) na zona a Montante para crianças e o HI total resultante da exposição oral (ingestão) para crianças nas zonas a Montante e a Jusante. O Arsênico também apresentou altos valores para HQ, embora abaixo do nível de segurança. (Tabela 8). Consequentemente, a água do rio Pardo pode ser uma via de preocupação para a exposição humana aos metais.

A água é um importante meio de transporte e dispersão do Tl no ambiente, que apesar de sua alta toxicidade, geralmente é excluído da lista de metais a serem analisados. Isso ocorre devido às suas baixas concentrações no ambiente natural, embora seja amplamente distribuída na natureza (XIAO *et al.*, 2012). Estudos recentes na China indicam que Tl é um poluente emergente no ambiente devido à crescente consciência de seu alto risco para a saúde humana (ZHOU *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2010). A concentração de Tl no ambiente pode estar relacionada à metalogênese epitermal de minerais sulfetados (LI *et al.*, 2012). Tálcio pode afetar vários tecidos e sistemas, tais como os sistemas epidérmicos, gastrointestinais, cardiovasculares e renais. As

principais manifestações de toxicidade consistem na rápida e progressiva, e extremamente dolorosa neuropatia sensorial e alopecia (WHO, 2006a).

O Arsênico ocorre naturalmente, contudo, a presença de arsênico também pode estar atribuída às atividades humanas, e entre elas a utilização de herbicidas (CHRISTODOULIDOU *et al.*, 2012). Síndrome gastrointestinal aguda é a apresentação mais comum após a ingestão aguda de As (WHO, 2006).

5.2.3 Risco carcinogênico

Os valores encontrados para o risco carcinogênico (ELCR) de As no Rio Pardo estavam de acordo com os valores de ELCR em água potável (10^{-6} a 10^{-4}) (EPA, 2005). No entanto, os resultados mostraram que o ELCR a Jusante apresentou um valor mais do que duas vezes maior que o ELCR a Montante, provavelmente relacionado com uma maior influência antropogênica no segundo trecho do rio. Neste estudo, a diferenciação entre As orgânico e inorgânico em amostras de água não foram realizadas. Tendo em conta que só o As inorgânico é cancerígeno, uma superestimação do risco foi feita (FERRÉ-HUGUET *et al.*, 2009). Em geral, o risco cancerígeno da zona a jusante apresentou valores mais elevados, bem como a exposição oral quando comparada à absorção dérmica (Tabela 9).

Arsênico ocorre naturalmente ou por atividades humanas, tais como mineração, fundição de metais, queima de combustíveis fósseis, produção e uso de pesticidas agrícolas e tratamento da madeira com conservantes (WHO, 2010).

5.3 Análise parasitológica

A técnica de sedimentação espontânea detectou a presença de *Entamoeba coli*, *Hymenolepis diminuta* e *Strongyloides stercoralis* (Figura 12). Embora tenha sido detectada a presença de alguns parasitas é importante ressaltar que a frequência parasitária foi baixa ao percorrer os doze pontos do Rio Pardo durante as diferentes campanhas.

Em países em desenvolvimento de regiões tropicais, subtropicais e áreas temperadas, a infecção por *S. stercoralis* é uma causa comum de morbidade e mortalidade. A strongiloidíase

Discussão

disseminada caracteriza-se pela migração de larvas para órgãos que não são normalmente envolvidos no ciclo de vida normal do parasita, tais como o cérebro e pele (KEISER; NUTMAN, 2004). Geralmente a himenolepíase está associada a perturbações gastrointestinais nos hospedeiros. Os hospedeiros definitivos do *Hymenolepis diminuta* são roedores. O homem torna-se infectado devido à ingestão acidental de insetos infectados, fato considerado raro (SREEDEVI; RAVI KUMAR; JYOTHISREE, 2013).

As parasitoses são causas relevantes de agravo à saúde em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde condições sócio-econômicas-culturais permitem a manutenção e disseminação de ciclos biológicos de vários parasitas. Os parasitas intestinais são um dos principais fatores debilitantes da população, associando-se freqüentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (LUDWIG *et al.*, 1999; VAZ, 2001).

A alta incidência de doenças parasitárias é um problema permanente de saúde pública, pois apresentam uma ampla distribuição geográfica em todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil (TONANI *et al.*, 2011).

Doenças de veiculação hídrica ocorrem em todo o mundo, e os surtos causados pela contaminação dos sistemas de água de comunidades têm o potencial de causar doenças em grandes números de consumidores. Surtos de veiculação hídrica têm consequências econômicas além dos custos com os cuidados da saúde dos pacientes afetados, seus familiares e contatos, e os custos das doenças e enfermidades, pois também criam uma falta de confiança na qualidade da água potável e da indústria da água em geral. Além de surtos causados por água potável contaminada, há surtos causados após ingestão acidental de águas utilizadas para recreação ou outra atividade (KARANIS *et al.*, 2007). Na Europa, durante 1986-1996, 277 surtos associados com água potável e de recreação foram relatados por 16 países europeus (KRAMER *et al.*, 2001).

Na pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos *Giardia* spp. foi detectada maior frequência de cistos de *Giardia* spp. (Figura 13). A detecção de *Cryptosporidium* em densidades relativamente baixas em poucas amostras deve ser considerada relevante, devido à alta virulência, infecciosidade e resistência ambiental do parasita. Outros autores brasileiros também relataram percentagens amostrais mais elevadas para *Giardia* quando comparadas às

porcentagens de *Cryptosporidium* em águas superficiais (FRANCO; ROCHA-EBERHARDT; CANTUSIO NETO, 2001; RAZZOLINI; SANTOS; BASTOS, 2010; SATO *et al.*, 2013).

Durante a coleta 2 (realizada na estação das chuvas) houve muitos interferentes e a leitura da lâmina foi dificultada, provavelmente o que resultou em menores valores para ambos os protozoários parasitas. O ponto 7 apresentou maior presença de cisto e oocistos que o ponto 8, mesmo o ponto 8 estando localizado mais a jusante e após receber as águas do Córrego Ribeirão Preto, corpo hídrico que corta a cidade mais populosa da bacia hidrográfica em questão (Figura 13). Sempre que maiores números de cistos ou oocistos foram encontrados para um dos protozoários o outro também apresentou maiores valores (Tabela 10).

Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia* são frequentemente excretados em grandes quantidades com as fezes de animais e seres humanos infectados (GRACZYK; FRIED, 2007). Cistos e oocistos de fezes humanas ou animais podem entrar em águas superficiais, diretamente ou por meio de efluentes e escoamento de campos que são poluídos por esterco ou lodo de esgoto (GRACZYK *et al.*, 2008; MONS *et al.*, 2009), resultando em poluição da água.

Cryptosporidium e *Giardia* são protozoários parasitas de veiculação hídrica que infectam uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados, inclusive humanos (XIAO; FAYER, 2008). A cryptosporidiose e a giardíase caracterizam-se por gerar nos pacientes acometidos quadros de diarreia de diversas severidades, causando sérias morbidades em seus hospedeiros, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (LOBO *et al.*, 2009).

A Avaliação de Risco Microbiológico Quantitativa, realizada por Sato et al. (2013) para avaliar a segurança da água potável em quatro regiões densamente povoadas do Estado de São Paulo, demonstrou que os riscos de infecção para *Giardia* e *Cryptosporidium* são superiores à meta adotada (10^{-4}) e enfatiza a necessidade de implementar os Planos de Segurança da Água como recomendado pela WHO (2011).

De acordo com WHO (2001), muitas vezes o tratamento de água e resíduos é inexistente ou insuficiente nos países em desenvolvimento, e, até que o saneamento seja melhorado, será impossível diminuir o número de doenças transmitidas pela água. Nos países industrializados um aumento de doenças transmitidas pela água é esperado devido a certos fatores, incluindo: agentes recém-reconhecidos (*Cryptosporidium*, *Giardia*, *Cyclospora*) que têm uma elevada resistência a produtos químicos utilizados no tratamento de água, e também o desenvolvimento de estirpes

resistentes aos antibióticos de patógenos; menor imunidade a patógenos (devido a melhores condições sanitárias e uma população com maior número de indivíduos imunocomprometidos) e uma maior susceptibilidade e risco de doenças durante falhas nos sistemas; influências antropogênicas nos sistemas de água que estimulam eutrofização, mudanças na estrutura da cadeia alimentar, crescimento irrestrito de "espécies prejudiciais" e a criação de locais de propagação de doenças transmitidas por vetores; mudanças nos métodos de produção agrícola, incluindo muitas operações de animais realizadas na proximidade de áreas urbanas, que conduz a um aumento na transmissão de agentes patogênicos de animais para seres humanos; envelhecimento e deterioração da infraestrutura ambiental, especialmente em cidades do interior.

Parte integrante do processo de detecção de *Giardia* e *Cryptosporidium* envolve determinar as eficiências de recuperação. Perdas significativas de cistos e oocistos durante os processos de concentração e de separação podem ocorrer. Além disso, as características da água (presença de sólidos suspensos ou algas) podem impactar significativamente a eficiência de recuperação. Como resultado, a concentração real de cistos e oocistos em uma amostra de água é quase sempre superior à concentração medida. Assim, a eficiência de recuperação está determinada a melhor aproximar a concentração real de cistos e oocistos. A eficiência de recuperação é geralmente medida por introdução de um número conhecido de cistos e oocistos na amostra de água antes que a amostra seja analisada. Idealmente, a eficiência de recuperação deve ser determinada para cada amostra, no entanto, porque isso é caro, os dados de eficiência de recuperação são normalmente recolhidos para um subconjunto de amostras (Health Canada, 2011).

Os controles de qualidade apresentaram recuperação percentual média de oocistos (33,5 %) e cistos (47,75 %) (Tabela 11) de acordo com o intervalo (24 - 100%) aceito pelo Método 1623: *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA* (EPA, 2005) (Tabela 10). Em um estudo recente realizado na China, os autores encontraram recuperação percentual média de oocistos e cistos de 29,14 % e 34,89 %, respectivamente (Xiao et al., 2013), enquanto Sato et al. (2013) em estudo realizado no Estado de São Paulo apresentaram porcentagens de recuperação de 39,4 % para *Giardia* e de 41,3 % para *Cryptosporidium*.

No Brasil, foi publicada recentemente a Portaria n. 2.914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011) do Ministério da Saúde, a qual recomenda a necessidade de monitorar a

Discussão

presença de *Cryptosporidium* e *Giardia* em água, perante sua significância sanitária, quando for identificada média geométrica anual maior ou igual a 1.000 *Escherichia coli*/100 mL. Entretanto, pouco se tem registrado no País sobre a real extensão do problema, incluindo informações epidemiológicas e de qualidade parasitológica da água o monitoramento de *Cryptosporidium* e *Giardia* em água de abastecimento, realizado por entidades estaduais no Brasil, ainda não ocorre rotineiramente (FREGONESI *et al.*, 2012), fato que pode ser atribuído a diversas limitações financeiras, metodológicas e por falta de recursos humanos capacitados (SKOTARCZAK, 2009).

5.4 Avaliação microbiológica

Para rios Classe 2 a Resolução CONAMA N°357/2005 estabelece que o uso de recreação de contato primário deverá obedecer a Resolução CONAMA n° 274, de 2000, onde são definidos os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. A Resolução CONAMA n° 274, de 2000 estabelece que as águas consideradas próprias poderão ser subdivididas nas seguintes categorias:

- a) Excelente: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 250 coliformes fecais (termotolerantes) ou 200 *Escherichia coli* ou 25 enterococos por 100 mililitros;
- b) Muito Boa: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 400 *Escherichia coli* ou 50 enterococos por 100 mililitros;
- c) Satisfatória: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo 1.000 coliformes fecais (termotolerantes) ou 800 *Escherichia coli* ou 100 enterococos por 100 mililitros.

As águas serão consideradas impróprias quando no trecho avaliado, for verificada uma das seguintes ocorrências:

- a) não atendimento aos critérios estabelecidos para as águas próprias;
- b) valor obtido na última amostragem for superior a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 *Escherichia coli* ou 400 enterococos por 100 mililitros.

Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o

período de um ano, com frequência bimestral. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente (BRASIL, 2005).

Números de coliformes termotolerantes são largamente utilizados como um indicador de contaminação fecal (presentes no trato intestinal de animais de sangue quente), enquanto que, coliformes totais, de origem fecal e ambiental, podem servir de parâmetro para fornecer informações de referência sobre qualidade das águas superficiais (WHO, 2006b). Coliformes totais compreendem um grande grupo de organismos e uma proporção importante detectada em amostras de água pode não ser de origem fecal, indicando que os coliformes totais podem não ser um indicador de confiança para a contaminação fecal (SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006; WHO, 2011b). Na presente estudo os valores de *E. coli* serão mais discutidos por ser o parâmetro contemplado na legislação nacional e também o melhor indicador de contaminação fecal.

Com relação à balneabilidade, de acordo com a legislação e levando em conta os valores encontrados para *E. coli* durante a estação chuvosa, os pontos 1 e 12 ($\cong 16,7\%$ dos pontos) foram enquadrados na categoria “Excelente”, enquanto que os pontos 6, 10 e 11 ($= 25\%$ dos pontos) na categoria “Muito Boa” e os pontos 4 e 5 ($\cong 16,7\%$ dos pontos) na categoria “Satisfatória”. Os pontos 2, 3, 7, 8 e 9 ($\cong 41,6\%$ dos pontos) foram considerados impróprios (Figura 26). Durante a estação seca os pontos 1, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12 ($\cong 66,6\%$ dos pontos) foram enquadrados na categoria “Excelente”, enquanto que os pontos 8 e 9 ($\cong 16,7\%$ dos pontos) na categoria “Muito Boa”. Já os pontos 2 e 7 ($\cong 16,7\%$ dos pontos) foram considerados impróprios (Figura 27).

Figura 26 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação chuvosa, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação à balneabilidade e os valores de *E. coli*

Figura 27 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação seca, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação à balneabilidade e os valores de *E. coli*

Para os demais usos da água, de acordo com a legislação e levando em conta os valores encontrados para *E. coli* durante a estação chuvosa, os pontos considerados impróprios foram: 2,

3, 7, 8 e 9 (= 50% dos pontos) (Figura 28). Durante a estação seca os pontos 2 e 7 ($\cong 16,7\%$ dos pontos) foram considerados impróprios (Figura 29).

Figura 28 – Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação chuvosa, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação aos demais usos e valores de *E. coli*

Figura 29– Porcentagem dos pontos de coleta, durante a estação seca, enquadrados em cada categoria estabelecida pela legislação nacional com relação aos demais usos e valores de *E. coli*

Avaliando as diferenças de valores encontradas para as 2 estações é importante salientar que mesmo sem apresentar diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) os coliformes totais apresentaram uma média maior durante a estação seca, diferentemente dos valores de *E. coli* que, além de apresentar diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) entre as estações, mostrou a maior média de seus valores durante a estação chuvosa.

De acordo com Schilling et al. (2009), maiores valores de *E. coli* durante o período chuvoso também foram encontrados em estudo realizado no Raccoon River em Iowa, Estados Unidos, e uma melhor compreensão das variações temporais no transporte *E. coli* em águas superficiais é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes para a proteção do corpo hídrico utilizado para abastecimento de água e recreação de contato primário. O'Neill et al. (2013) também encontrou valores maiores para *E. coli* durante o período das chuvas, provável resultado da lavagem do solo pelas chuvas em terras abertas e áreas comerciais densas.

No estado de São Paulo a estação chuvosa apresenta maiores temperaturas. Muitos estudos mostram a temperatura como fator crucial na influência no crescimento ou diminuição de *E. coli* (BLAUSTEIN et al., 2013; LIANG et al., 2013).

A nascente (ponto 1) apresentou os menores valores para coliformes totais e *E. coli*, especialmente para *E. coli* ($<1,8$ NMP/100 mL) (Tabelas 12 e 13) em ambas as estações, indicando a ausência de descarga de efluentes domésticos e seu uso como ponto controle. A qualidade da água, biodiversidade e saúde ecológica dos sistemas de água doce dependem de funções fornecidas pelas nascentes. Entre as funções destes fluxos estão: a manutenção de regimes de descarga naturais, a regulação de sedimentos, a retenção de nutrientes, o processamento da matéria orgânica terrestre, nichos para diversos organismos, etc (LOWE; LIKENS, 2005).

O ponto 2 mostrou-se o mais crítico quando levado em conta os valores (NMP/100 mL) encontrados para coliformes totais e *E. coli*. (Tabelas 12 e 13). Uma possível causa seria o fato do Rio Pardo, ainda com uma ordem reduzida de tamanho, receber descargas de esgoto, principalmente doméstico, de toda a cidade de Ipuíuna. Com uma população de aproximadamente 10.000 habitantes (IBGE, 2010) o município de Ipuíuna não possui coleta e tratamento do esgoto doméstico, sendo os mesmos despejados diretamente no corpo hídrico, fato verificado durante as campanhas de coleta de amostras (Figura 30).

Discussão

Figura 30 – Lançamento de efluentes de origem doméstica e outros objetos no Rio Pardo no município de Ipuíuna, MG.

Interessante notar também que, com exceção do ponto 2, os pontos 7, 8 e 9 apresentaram valores mais altos que os demais para coliformes totais e *E. coli*. (Figuras 15 e 16). Esses pontos, apesar de apresentarem maior ordem de tamanho quando comparados ao ponto 2, estão localizados na região mais populosa da bacia do Rio Pardo e provavelmente foram influenciados por uma maior descarga de esgoto doméstico, lembrando que a cidade de Ribeirão Preto está localizada entre os pontos 7 e 8.

As taxas de sobrevivência de *E. coli* na água é importante na avaliação da contaminação microbiana e tomada de decisões de gestão adequados. *Escherichia coli* é utilizada para indicar a presença de contaminação fecal na água e, por extensão, a possível presença de microorganismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica, tais como febre tifóide, paratífóide, disenteria bacilar e cólera (APHA/AWWA/WEF, 2005; KAZMI *et al.*, 2008; SUTHAR; CHHIMPA; SINGH, 2009; WHO, 2011b). Embora a grande maioria das estirpes de *E. coli* não seja patogênica, uma forte correlação foi observada entre os níveis elevados de *E. coli* em águas destinadas à recreação e ocorrências de doenças gastrointestinais (USEPA, 1986; GEMMELL; SCHMIDT, 2013).

Discussão

Segundo Grande et al. (2005), com o aumento da precipitação o pH apresenta valores mais elevados. O aumento de volume do corpo hídrico provoca uma diminuição da acidez. Logo é possível associar a correlação positiva encontrada entre coliformes totais / pH, durante a estação chuvosa, ao escoamento das águas das chuvas que, além de aumentar o pH do rio, pode causar também o aumento de coliformes totais. Já a correlação positiva encontrada entre coliformes totais / turbidez e *E. coli* / turbidez, durante a estação seca, pode ser associada à descarga de efluentes, aumentando a carga bacteriana e também a turbidez do corpo hídrico.

Ação antrópica pode ser uma das causas da origem das perturbações da qualidade da água, destacando-se entre ela os efluentes oriundos de esgotos, os quais estão vinculados às atividades urbanas, agrícolas, portuárias e industriais. Esses poluentes comportam-se tanto de forma pontual ou difusa (SCHAFFNER; BADER; SCHEIDEGGER, 2009). Poluição fecal das águas ainda representa ameaça à saúde pública, apesar dos esforços feitos nos últimos anos para a sua melhora (WILKES *et al.*, 2011). Contaminação microbiana é também a principal causa de deterioração de rios e córregos nos Estados Unidos (USEPA, 2012). O escoamento superficial, incluindo o escoamento das águas das chuvas em solo impermeável e escoamento agrícola após precipitação ou irrigação, pode servir como uma importante via de transmissão de contaminantes (MORRISON; BACHOON; GATES, 2008; CONVERSE; PIEHLER; NOBLE, 2011).

5.5 Análise de Componentes Principais (PCA)

A rotação de componentes principais pode conseguir uma representação mais simples e mais significativa dos fatores subjacentes, diminuindo a contribuição de variáveis com menor importância e aumentando as mais significativas para os componentes principais. Apesar da rotação não afetar a qualidade de ajuste da componente principal, a variância explicada por cada fator é modificada (VEGA *et al.*, 1998; MISHRA, 2010).

PCA mostrou que o Cd, Pb e Sn apresentaram altos valores e estão entre as variáveis que mais contribuíram para a PC 1 ($\cong 26\%$) (Figura 12 (a) e Tabela 15). Esses metais mostraram maiores correlações de acordo com a matriz de correlação (Tabela 14) e estão presentes principalmente nas amostras do ponto de coleta 8 durante a estação seca, ponto que apresentou altos valores para a PC 1 de acordo com o gráfico de *Scores* (Figura 13 (a)). Pelos resultados

Discussão

encontrados e localização de coleta das amostras pode-se inferir que a origem desses metais no ponto 8 durante a estação seca é antropogênica e está relacionada a uma fonte pontual.

A PC 2 ($\cong 23\%$) mostrou contribuir bastante para a separação dos pontos de coleta de acordo com a estação. Amostras coletadas durante as chuvas apresentaram valores positivos, enquanto que as amostras coletadas durante a seca apresentaram valores negativos de acordo com o gráfico de *Scores* (Figura 13 (a)). Turbidez, OD, Ni e Cu foram as variáveis que mais contribuíram para a PC 2 (Figura 12 (a) e Tabela 15) e consequentemente na separação das amostras em agrupamentos diferentes de acordo com a estação. Turbidez, Cu e Ni apresentaram valores positivos para a PC 2 apresentando maior influência nas amostras da estação chuvosa, enquanto que OD apresentou valor negativo apresentando maior influência nas amostras da estação seca (Figura 13 (a)). Turbidez, OD e Ni apresentaram maiores correlações (Tabela 14).

Cromo e V apresentaram altas correlações e contribuíram para a PC 3 ($\cong 13\%$) mostrando altos valores positivos (Figura 12 (b) e Tabela 15). De acordo com o gráfico de *Scores* (Figura 13 (b)) é possível observar que esses metais ocorreram principalmente nas amostras de pontos mais a Jusante durante a estação chuvosa.

Condutividade, pH e Tl contribuíram para a PC 4 ($\cong 13\%$). Condutividade e pH apresentaram valores positivos para a PC 4, enquanto que o Tl apresentou valor negativo (Figura 12 (b) e Tabela 15). De acordo com o gráfico de *Scores* (Figura 13 (b)) o Tl ocorreu principalmente nas amostras do primeiro ponto (Nascente) em ambas as estações. É possível inferir que as maiores concentrações de Tl nessas amostras possuam origem natural e provavelmente ligadas às características geomorfológicas da região, já que esse ponto possui mata ciliar relativamente preservada e pouca influência antropogênica.

5.6 Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)

Os agrupamentos I e II formados pela HCA (Figura 14) mostram a influência sazonal de maneira muito clara, com uma provável participação de fontes difusas de contaminação. O agrupamento I apresentou, com exceção do ponto de coleta 8 durante a estação seca, pontos de coleta pertencentes à estação chuvosa. O agrupamento II apresentou pontos de coleta pertencentes à estação seca. Tanto o agrupamento I e II apresentaram subagrupamentos que

Discussão

mostram a influência espacial no corpo hídrico, com pontos mais a Montante separados dos pontos mais a Jusante, com exceção dos 2 primeiros pontos de coleta que apresentaram-se no agrupamento III. Corroborando com os resultados analisados anteriormente é interessante notar que podemos inferir ao ponto de coleta 8, durante a estação seca, uma maior influência de fontes pontuais de contaminação, associada principalmente às descargas de efluentes que ocorrem nesse trecho do rio.

O agrupamento III (Figura 14) mostrou que a influência sazonal nos 2 pontos de coleta (1 e 2 durante ambas estações) pertencentes a ele não é evidente, provavelmente pelas características desses dois trechos que diferenciam-se dos demais, principalmente, pela ordem de grandeza. Também apresentaram menor similaridade e maiores distâncias dos outros pontos possivelmente pelo ponto 1 ser a nascente e, além do tamanho reduzido do trecho, possuir mata ciliar relativamente maior que outros trechos, minimizando a influência das chuvas no carreamento de cargas difusas, enquanto que o ponto 2, além do tamanho reduzido do trecho, apresentou muitas descargas de esgoto, principalmente doméstica, sendo o mesmo citado anteriormente como ponto mais crítico quando levado em conta os valores encontrados para coliformes totais e *E. coli*.

Importante destacar que HCA é útil para uma classificação confiável das águas superficiais da área de estudo e também para uma avaliação rápida da qualidade da água, pois apenas locais representativos de cada grupo podem ser selecionados. Contudo, é possível projetar uma melhor estratégia de monitoramento espacial futura com menos locais de amostragem e redução de custos (KIM *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2013).

Conclusões

6 CONCLUSÕES

6.1 Avaliação Limnológica

- As médias dos valores de pH das amostras de água superficial apresentaram valores em alguns pontos de coleta, em ambas as estações, que não se encontram dentro dos limites preconizados pela Resolução CONAMA N° 357 / 2005.
- O ponto de coleta 12 foi o único que apresentou média das leituras inferior ($4,7 \text{ mg.L}^{-1}$) ao estabelecido pela legislação nacional, e somente durante a estação chuvosa.
- Em nenhum ponto foram encontrados valores superiores a $100 \text{ } \mu\text{S.cm}^{-1}$ para a condutividade, indicando que o Rio Pardo, de acordo com esse parâmetro, é um corpo hídrico pouco impactado.
- As médias dos valores encontrados para Turbidez não foram superiores ao preconizado pela legislação nacional.

6.2 Avaliação de metais

- Em comparação aos padrões de qualidade estabelecidos pelo CONAMA n° 357/2005, as concentrações dos metais analisados na água superficial estão em conformidade com a legislação brasileira. Manganês e Zn apresentaram as maiores médias das concentrações.
- Cádmio, Cu, Ni e o Pb mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as estações do ano, com Cd, Cu e Ni apresentando valores mais elevados durante a estação chuvosa e Pb apresentando valores mais elevados durante a estação seca. Cromo, Tl e V apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as zonas a Montante e a Jusante.
- O Chumbo, ao contrário de outros metais, não apresentou maior média de concentração em água superficial durante a estação chuvosa. Possivelmente por uma fonte pontual de contaminação, fato constatado pelo valor encontrado ($29,54 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) em uma única campanha, durante a estação seca, no ponto de amostragem 8.

- Os resultados das análises dos sedimentos mostraram que todos os metais apresentaram as médias das concentrações de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 344/2004, embora Cu e Cr tenham apresentado, em alguns pontos, níveis mais elevados do que os estabelecidos pela legislação para o nível 1. Manganês apresentou as maiores médias de concentração.
- Os metais que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as duas zonas (Montante e Jusante) foram o Cd, Cr, Cu, Pb, Sn, V, Zn ($p < 0,05$), com médias mais elevadas na zona a Jusante, enquanto que para a divisão das campanhas de amostragem entre as estações do ano as diferenças foram estatisticamente significantes para Ni, Mn, Zn, Cu, Cd e Pb ($p < 0,05$), com valores mais elevados durante a época das chuvas para todos os metais.

6.3 Avaliação do risco para a saúde humana

- No que diz respeito ao risco não carcinogênico não foram encontradas diferenças importantes na ingestão de metal e absorção dérmica entre adultos e crianças e também entre as duas diferentes zonas, Montante e Jusante. Em geral, a exposição oral aos metais por meio da ingestão de água foi maior do que para a absorção dérmica.
- Alguns valores do HQ total e HI mostraram-se acima do nível de segurança 1.0, visto o HQ do TI resultante da exposição oral (ingestão) na zona a Montante para crianças e o HI total resultante da exposição oral (ingestão) para crianças nas zonas a Montante e a Jusante. O Arsênico também apresentou altos valores para HQ, embora abaixo do nível de segurança. Consequentemente, a água do rio Pardo pode ser uma via de preocupação para a exposição humana aos metais.
- Os valores encontrados para o risco cancerígeno (ELCR) de As no Rio Pardo estavam de acordo com os valores de ELCR em água potável (10^{-6} a 10^{-4}). No entanto, os resultados mostraram que o ELCR a Jusante apresentou um valor mais do que duas vezes maior que o ELCR a Montante.

6.4 Avaliação parasitológica

- A técnica de sedimentação espontânea detectou a presença de *Entamoeba coli*, *Hymenolepis diminuta* e *Strongyloides stercoralis*.
- Para os valores de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. foram encontrados maiores valores para cistos de *Giardia* spp.
- Os controles de qualidade apresentaram recuperação percentual média de oocistos (33,5 %) e cistos (47,75 %) (Tabela 11) de acordo com o intervalo (24 - 100%) aceito pelo Método 1623: *Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA*.

6.5 Avaliação microbiológica

- Com relação à balneabilidade, de acordo com a legislação e levando em conta os valores encontrados para *E. coli* durante a estação chuvosa, 16,7% dos pontos foram enquadrados na categoria “Excelente”, enquanto que 25% na categoria “Muito Boa”, 16,7% na categoria “Satisfatória” e 41,6% foram considerados impróprios. Durante a estação seca 66,6% dos pontos foram enquadrados na categoria “Excelente”, enquanto que 16,7 na categoria “Muito Boa” e 16,7% foram considerados impróprios.
- Para os demais usos da água, de acordo com a legislação e levando em conta os valores encontrados para *E. coli* durante a estação chuvosa, 50% dos pontos foram considerados impróprios. Durante a estação seca 16,7% dos pontos foram considerados impróprios.
- *E. coli* apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as estações, com uma maior média de seus valores durante a estação chuvosa.
- A nascente (ponto 1) apresentou os menores valores para coliformes totais e *E. coli*, especialmente para *E. coli* ($< 1,8$ NMP/100 mL) em ambas as estações, indicando a ausência de descarga de efluentes domésticos e seu uso como ponto controle.
- O ponto 2 mostrou-se o mais crítico quando levado em conta os valores (NMP/100 mL) encontrados para coliformes totais e *E. coli*.

Conclusões

6.6 Análise exploratória multivariada (PCA e HCA)

- HCA complementou a PCA e mostraram-se importantes ferramentas na avaliação das influências sazonais, espaciais, antropogênicas e também das associações entre as variáveis. Contudo, permitiu uma classificação confiável das águas superficiais da área de estudo, assim como uma futura avaliação rápida da qualidade da água, pois apenas locais representativos de cada grupo podem ser selecionados.
- De uma maneira geral os resultados sugerem a influência das chuvas, possíveis descargas de esgoto no curso de água e também o aporte de matéria orgânica em alguns pontos de amostragem em diferentes estações, além da ausência de mata ciliar em grande parte do Rio Pardo.

Considerações

7 CONSIDERAÇÕES

A qualidade da água é afetada por fatores naturais e antropogênicos, incluindo a estrutura geológica e a mineralogia, chuvas e eventos de escoamento superficial, crescimento da população, urbanização e industrialização (KISTEMANN *et al.*, 2002; SOLARAJ *et al.*, 2010; SUTHAR *et al.*, 2010; ALEXAKIS, 2011; CALJURI *et al.*, 2012; CHIGOR; SIBANDA; OKOH, 2012).

Examinar *E. coli* juntamente com as características físico-químicas ajuda a discernir as mudanças trazidas pelas descargas de águas residuais industriais e domésticas ao longo do curso do rio. Uma combinação de indicadores físicos, químicos e biológicos deve ser utilizada para avaliar a qualidade da água (LAVADO *et al.*, 2006). No entanto, as relações internas entre as principais características biológicas e físico-químicas nas águas superficiais precisam ser amplamente discutidas para avaliar os ecossistemas aquáticos criticamente (YANG *et al.*, 2007).

O estabelecimento de metas de qualidade das águas por meio de seu enquadramento é o principal referencial para sua gestão e deve ser o resultado final de um processo que leve em conta fatores ambientais, sociais e econômicos (MARGULIS; HUGHES; AZEVEDO, 2002).

Os impactos ambientais e sociais da degradação da qualidade das águas têm reflexos econômicos, nem sempre mensurados, tais como o aumento do custo de tratamento das águas destinadas ao abastecimento doméstico e ao uso industrial, o aumento de custos hospitalares com internações, a perda de produtividade na agricultura e na pecuária, a redução da pesca, a perda da biodiversidade e a perda de valores turísticos, culturais e paisagísticos (ANA, 2012b).

Com relação às doenças de veiculação hídrica, a redução de custos relativos a internações por elas provocadas, entre outros benefícios, poderia ser significativa, caso os serviços de saneamento fossem universalizados. Em 2009, dos 462 mil pacientes internados por infecções gastrointestinais, 2.101 morreram no hospital. No ano de 2010, o custo médio de uma internação por infecção gastrointestinal no Sistema Único de Saúde (SUS) foi de cerca de R\$350. Isso acarretou despesas públicas de R\$161 milhões. Se houvesse acesso universal ao saneamento, haveria uma redução de 25% no número de internações e 65% na mortalidade, significando ganho econômico expressivo (FGV, 2010).

A avaliação de risco para a saúde humana derivada da exposição aos metais indicou que a água do Rio Pardo pode representar risco para elementos não carcinogênicos, enquanto que os

valores para os elementos carcinogênicos estavam de acordo com os riscos aceitáveis. Esse resultado sugere uma avaliação de risco mais precisa e também uma prática de remediação para o Tl, uma vez o mesmo tenha apresentado um alto valor de risco. É muito provável que maiores concentrações de Tl em amostras do ponto 1 (nascente) possuam origem natural e provavelmente ligadas às características geomorfológicas da região. Também é recomendado um estudo de As, para assim estabelecer valores mais confiáveis para o risco carcinogênico.

Técnicas de estatística multivariada foram aplicadas para caracterizar e avaliar a qualidade da água superficial, elas são úteis para verificar as variações espaciais e temporais causadas por fatores naturais e antropogênicos ligados à sazonalidade (ZARE GARIZI; SHEIKH; SADODDIN, 2011; AJORLO *et al.*, 2013).

A bacia do rio Pardo possui cidades abastecidas por águas superficiais e outras apenas por águas subterrâneas (Aquífero Guarani), como a cidade de Ribeirão Preto, a área mais populosa. De acordo com SIGHR (Sistema de Informação para a Gestão dos Recursos Hídricos do Estado de São Paulo) (2010), há uma clara tendência de crescimento da população nas proximidades do Rio Pardo, bem como as atividades econômicas, com consequentes impactos sobre os recursos hídricos. Essa tendência faz com que a água do rio Pardo seja uma alternativa estratégica para o futuro abastecimento de Ribeirão Preto e seus arredores, o que evidencia a importância deste estudo.

Estudos de corpos hídricos são de grande importância para a saúde pública, especialmente em países como o Brasil onde são observados menores índices de saneamento ambiental. A principal causa provável do aumento do IQA (quando existente) identificada pelos órgãos gestores estaduais é o investimento em saneamento, por meio de ações como a ampliação dos sistemas de coletas de esgotos, a implementação de Estações de Tratamento de Esgotos (ETE) ou o aumento de sua eficiência, e a desativação de lixões. O controle de fontes industriais e o aumento das vazões efluentes de reservatórios também são fatores indicados como causas prováveis da melhoria da qualidade (ANA, 2012b).

O monitoramento da qualidade da água do Rio Pardo é um importante instrumento de gestão ambiental, sendo indicada sua continuidade para a obtenção de uma série consistente de dados sistematizados e dessa maneira subsidiar de forma concreta as ações de planejamento e controle do uso da água do Rio Pardo e do solo em seu entorno. Como exemplo das ações que podem contribuir para a maior proteção do recurso hídrico recomenda-se um maior controle e

fiscalização de efluentes, despejados de forma direta ou indireta, e a restauração da mata ciliar em grande parte do rio.

Referências Bibliográficas

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSER, C.; ROBINSON, R. Mobilisation of iron and manganese from sediments of a Scottish Upland reservoir. **Journal of Limnology**, v. 69, n. 1, p. 42-53, 2010.

AHIPATHY, M. V.; PUTTAIAH, E. T. Ecological characteristics of Vrishabhavathy River in Bangalore (India). **Environmental Geology**, v. 49, n. 8, p. 1217-1222, 2006/04/01 2006.

AJORLO, M.; ABDULLAH, R. B.; YUSOFF, M. K.; HALIM, R. A.; HANIF, A. H. M.; WILLMS, W. D.; EBRAHIMIAN, M. Multivariate statistical techniques for the assessment of seasonal variations in surface water quality of pasture ecosystems. **Environmental Monitoring and Assessment**, p. 1-10, 2013.

ALEXAKIS, D. Assessment of water quality in the Messolonghi-Etoliko and Neochorio region (West Greece) using hydrochemical and statistical analysis methods. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 182, n. 1-4, p. 397-413, 2011.

ALVES, R. I. S.; CARDOSO, O. O.; TONANI, K. A. A.; JULIÃO, F. C.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Water quality of the Ribeirão Preto Stream, a watercourse under anthropogenic influence in the southeast of Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, p. 1-11, 2012.

ANA. (Agência Nacional das Águas). Geo Brasil : recursos hídricos : componente da série de relatórios sobre o estado e perspectivas do meio ambiente no Brasil. Disponível em: <<http://www.ana.gov.br/bibliotecavirtual/>> Acesso em: 20/ 06/ 2011. 2007.

_____. (Agência Nacional das Águas). Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: informe 2012. Ed. Especial. Brasília. Disponível em: <<http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/arquivos/Conjuntura2012.pdf>>. Acesso em: 15/06/2013. 2012a.

_____. (Agência Nacional das Águas). Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil: 2012. Brasília. Disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/Panorama_Qualidade_Aguas_Superficiais_BR_2012.pdf>. Acesso em: 16/04/2013. 2012b.

ANTONOPOULOS, V. Z.; GIANNIOU, S. K. Simulation of water temperature and dissolved oxygen distribution in Lake Vegoritis, Greece. **Ecological Modelling**, v. 160, n. 1-2, p. 39-53, 2003.

ANTWEILER, R. C.; TAYLOR, H. E.; ALPERS, C. N. Distribution and geochemistry of selected trace elements in the Sacramento River near Keswick Reservoir. **Chemical Geology**, v. 298-299, p. 70-78, 2012.

APHA. (American Public Health Association). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20^a ed. Washington DC: APHA INC. 1015. , p. 1085, 1998.

APHA/AWWA/WEF. (American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation). Standard methods for examination of water and wastewater. 21st ed., Washington, USA. 4358 pp. 2005.

APRILE, F. M.; SIQUEIRA, G. W. Alternative treatment methods of drinking-water for river communities in Central Amazoniam. In: BILIBIO, C.; HENSEL, O. e SELBACH, J. E. (Ed.). **Sustainable Water Management in the Tropics and Subtropics - and Case Studies in Brazil**: 1^o ed. v.1. Fundação Universidade Federal do Pampa, Unikassel, PGCult/UFMA, Rio Grande do Sul., 2011.

BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; HELLER, L.; VIEIRA, M. B. C. M.; BRITO, L. L. **A. Abordagem sanitário-epidemiológica do tratamento e da qualidade parasitológica da água: entre o desejável e o possível**. 21 Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. CD Room. João Pessoa - PB 2001.

BETHONY, J.; BROOKER, S.; ALBONICO, M.; GEIGER, S. M.; LOUKAS, A.; DIEMERT, D.; HOTEZ, P. J. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. **The Lancet**, v. 367, n. 9521, p. 1521-1532, 2006.

BHARDWAJ, V.; SINGH, D. S.; SINGH, A. K. Environmental repercussions of cane-sugar industries on the Chhoti Gandak river basin, Ganga Plain, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 171, n. 1-4, p. 321-344, 2010.

BLAUSTEIN, R. A.; PACHEPSKY, Y.; HILL, R. L.; SHELTON, D. R.; WHELAN, G. Escherichia coli survival in waters: Temperature dependence. **Water Research**, v. 47, n. 2, p. 569-578, 2013.

BRANCO, S. M. **Hidrologia Ambiental**. Editora da USP: Associação Brasileira de Recursos Hídricos. Vol. 3. São Paulo, 1991.

BRASIL. CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Resolução nº 344 de 25 de março de 2004. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências., 2004.

_____. CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Resolução Nº 357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 17 de março de. 2005.

_____. Portaria do Ministério da Saúde nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF., 2011.

CALIJURI, M. L.; DO COUTO, E. D. A.; SANTIAGO, A. D. F.; CAMARGO, R. D. A.; E SILVA, M. D. F. M. Evaluation of the influence of natural and anthropogenic processes on water quality in Karstic region. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 223, n. 5, p. 2157-2168, 2012.

CBH-GRANDE. (Comitê de Bacia Hidrográfica). Disponível em: <<http://www.grande.cbh.gov.br/docs/outros/DiagnosticodaSituacaodosRHnoRioGrande.pdf>> Acesso em: 12 jan. 2013. 2008.

_____. (Comitê de Bacia Hidrográfica). UGRHI 4 – Pardo. Disponível em: <<http://www.grande.cbh.gov.br/UGRHI4.aspx>> Acesso em: 16 jan. 2013. 2011.

CETESB. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Guia de coleta e preservação de amostras de água. São Paulo. p. 150, 1998.

_____. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Água. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/relatorios/rios/rel_aguas_int_2005/rel_aguas_int_2005.zip>. Acesso em: 16 mar. 2011., 2006a.

_____. (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO). Água. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/relatorios/rios/rel_aguas_int_2005/rel_aguas_int_2005.zip>. Acesso em: 18 mai.2010., 2006b.

_____. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) Variáveis de qualidade das águas Disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp>> Acesso em: 10/09/2010., 2009.

_____. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Água. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2009. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/tecnologia-ambiental/laboratorios/61-publicacoes-e-relatorios---relatorios-de-qualidade>>. Acesso em: 20 set.2012., 2010.

_____. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Água. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2011. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios> . Acessado em 08 jan. 2013. 2012.

_____. (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Água. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2011. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios> . Acessado em 06 mai. 2013. 2013.

CHASIN, A. A. M.; PEDROZO, M. F. M. O estudo da Toxicologia. In: Azevedo, F. A. & Chasin, A. A. M.(eds.). **As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 330 p, 2003.

CHENG, W. P.; JIA, Y. Identification of contaminant point source in surface waters based on backward location probability density function method. **Advances in Water Resources**, v. 33, n. 4, p. 397-410, 2010.

CHIGOR, V.; SIBANDA, T.; OKOH, A. Variations in the physicochemical characteristics of the Buffalo River in the Eastern Cape Province of South Africa. **Environmental Monitoring and Assessment**, p. 1-15, 2013.

CHIGOR, V. N.; SIBANDA, T.; OKOH, A. I. Studies on the bacteriological qualities of the Buffalo River and three source water dams along its course in the Eastern Cape Province of South Africa. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-12, 2012.

CHRISTODOULIDOU, M.; CHARALAMBOUS, C.; ALETRARI, M.; NICOLAIDOU KANARI, P.; PETRONDA, A.; WARD, N. I. Arsenic concentrations in groundwaters of Cyprus. **Journal of Hydrology**, v. 468-469, p. 94-100, 2012.

CIIAGRO. (Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas) Balanço Hídrico: Ribeirão Preto. Disponível em: <www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>. Acesso em: 20/09/2012. 2012.

CLEICK, P. H. Making every drop count. **Scientific American**, v. 284, n. 2, p. 28-33, 2001.

CONVERSE, R. R.; PIEHLER, M. F.; NOBLE, R. T. Contrasts in concentrations and loads of conventional and alternative indicators of fecal contamination in coastal stormwater. **Water Research**, v. 45, n. 16, p. 5229-5240, 2011.

CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; DOS SANTOS, A. Environmental evaluation of metals in sediments and dragonflies due to sugar cane cultivation in neotropical streams. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 195, n. 1-4, p. 325-333, 2008.

D'AGUILA, P. S.; ROQUE, O. C. D. C.; MIRANDA, C. A. S.; FERREIRA, A. P. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. 791-798, 2000.

DAEE. (Departamento de Águas e Energia Elétrica). O Projeto Água Limpa 2007. Disponível em <<http://www.daee.sp.gov.br/cgi-bin/Carrega.exe?arq=/agualimpa/index.htm>> Acesso em 10/06/2010., 2007.

DE ANGELIS, C. F.; MCGREGOR, G. R.; KIDD, C. A 3 year climatology of rainfall characteristics over tropical and subtropical South America based on tropical rainfall measuring mission precipitation radar data. **International Journal of Climatology**, v. 24, n. 3, p. 385-399, 2004.

DE SILVA, N. R.; BROOKER, S.; HOTEZ, P. J.; MONTRESOR, A.; ENGELS, D.; SAVIOLI, L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 12, p. 547-551, 2003.

DIXON, W.; CHISWELL, B. Review of aquatic monitoring program design. **Water Research**, v. 30, n. 9, p. 1935-1948, 1996.

DUMAN, F.; KAR, M. Temporal variation of metals in water, sediment and tissues of the European chup (*Squalius cephalus* L.). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, n. 2, p. 428-433, 2012.

ELDER, J. F. **Metal biogeochemistry in surface-water systems; A review of principles and concepts**. U.S. Geological Survey Circular 1013, 1988. 43 p.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 826 p.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.

FERRÉ-HUGUET, N.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Human health risk assessment for environmental exposure to metals in the Catalan stretch of the Ebro River, Spain. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 15, n. 3, p. 604-623, 2009.

FERREIRA, E. C.; RODRIGUES, S. H. B. G.; FERREIRA, M. M. C.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Análise exploratória dos teores de constituintes inorgânicos em sucos e refrigerantes de uva. **Eclética Química**, v. 27, p. 77-90, 2002.

FGV. (Fundação Getúlio Vargas). **Benefícios econômicos da expansão do saneamento brasileiro**. Rio de Janeiro, 2010.

FIGUEROA, S. N.; NOBRE, C. A. Precipitation distribution over Central and Western tropical South America. **Climanálise**, v. 5, p. 36-45, 1989.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G., T., W. . **Metal Pollution in the Aquatic Environment**. Berlin, Springer – Verlag, 1979. 486 p.

FRANCO, R. M. B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, campinas, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 43, n. 2, p. 109-111, 2001.

FREGONESI, B. M.; DE FREITAS SAMPAIO, C.; RAGAZZI, M. F.; DE ABREU TONANI, K. A.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. *Cryptosporidium* and *Giardia*: Challenges in public water supplies. **Cryptosporidium e Giardia: Desafios em águas de abastecimento público**, v. 36, n. 4, p. 602-609, 2012.

GARRETT, R. G. Natural Sources of Metals to the Environment. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 6, n. 6, p. 945-963, 2000/11/01 2000.

GEMMELL, M. E.; SCHMIDT, S. Is the microbiological quality of the Msunduzi River (KwaZulu-Natal, South Africa) suitable for domestic, recreational, and agricultural purposes? **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-12, 2013.

GOYER, R. A. **Toxic effects of metals.** In: CASSARET, L. J., KLAASSEN C. D.; WATKINS, J. . Cassaret & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. pp. 582-635. 3a ed. New York: Macmillan Publishing Company, 1986. 974 p.

GRACZYK, T. K.; FRIED, B. **Human Waterborne Trematode and Protozoan Infections.** 64: 111-160 p. 2007.

GRACZYK, T. K.; KACPRZAK, M.; NECZAJ, E.; TAMANG, L.; GRACZYK, H.; LUCY, F. E.; GIROUARD, A. S. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in sewage sludge and solid waste landfill leachate and quantitative comparative analysis of sanitization treatments on pathogen inactivation. **Environmental Research**, v. 106, n. 1, p. 27-33, 2008.

GRANDE, J. A.; ANDÚJAR, J. M.; AROBA, J.; DE LA TORRE, M. L.; BELTRÁN, R. Precipitation, pH and metal load in AMD river basins: An application of fuzzy clustering algorithms to the process characterization. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 7, n. 4, p. 325-334, 2005.

GREENPEACE. São Paulo. Metais pesados - contaminando a vida. Disponível em: http://www.greenpeace.org.br/toxicos/?conteudo_id=818&sub_campanha=0&img=15> Acesso em 20/04/2010., 2007.

GRYSCHEK, R. C. B.; LESCANO, S. A. Z. Balantidíase. In: AMATO NETO, V.;GRYSCHEK, R. C. B.;AMATO, V. S. e TUON, F. F. (Ed.). **Parasitologia. Uma abordagem clínica:** 1a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.49–51.

HELLER, L. Saneamento e saúde. Brasília: OPS/OMS. p. 97 p., 1997.

IBGE. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Estatística. Available at: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_encaa/defaulttabpdf_UF.shtm. 2010.

JACKSON, J. E. **A User's Guide to Principal Components.** New York: Wiley, 1991.

KARANIS, P.; THEKISOE, O.; KIOUPTSI, K.; ONGERTH, J.; IGARASHI, I.; INOUE, N. Development and preliminary evaluation of a loop-mediated isothermal amplification procedure for sensitive detection of Cryptosporidium oocysts in fecal and water samples. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 17, p. 5660-5662, 2007.

KAVCAR, P.; SOFUOGLU, A.; SOFUOGLU, S. C. A health risk assessment for exposure to trace metals via drinking water ingestion pathway. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 212, n. 2, p. 216-227, 2009.

- KAZMI, A. A.; TYAGI, V. K.; TRIVEDI, R. C.; KUMAR, A. Coliforms removal in full-scale activated sludge plants in India. **Journal of Environmental Management**, v. 87, n. 3, p. 415-419, 2008.
- KEISER, P. B.; NUTMAN, T. B. Strongyloides stercoralis in the Immunocompromised Population. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 1, p. 208-217, 2004.
- KIM, J. H.; KIM, R. H.; LEE, J.; CHEONG, T. J.; YUM, B. W.; CHANG, H. W. Multivariate statistical analysis to identify the major factors governing groundwater quality in the coastal area of Kimje, South Korea. **Hydrological Processes**, v. 19, n. 6, p. 1261-1276, 2005.
- KISTEMANN, T.; CLAßEN, T.; KOCH, C.; DANGENDORF, F.; FISCHEDER, R.; GEBEL, J.; VACATA, V.; EXNER, M. Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2188-2197, 2002.
- KOEDRITH, P.; SEO, Y. R. Advances in Carcinogenic Metal Toxicity and Potential Molecular Markers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, p. 9576-9595, 2011.
- KRAMER, M. H.; QUADE, G.; HARTEMANN, P.; EXNER, M. Waterborne diseases in Europe - 1986-96. **Journal / American Water Works Association**, v. 93, n. 1, p. 48-53, 2001.
- LAVADO, R.; UREÑA, R.; MARTIN-SKILTON, R.; TORREBLANCA, A.; DEL RAMO, J.; RALDÚA, D.; PORTE, C. The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. **Environmental Pollution**, v. 139, n. 2, p. 330-339, 2006.
- LI, G.; LIU, G.; ZHOU, C.; CHOU, C. L.; ZHENG, L.; WANG, J. Spatial distribution and multiple sources of heavy metals in the water of Chaohu Lake, Anhui, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, p. 1-11, 2011.
- _____. Spatial distribution and multiple sources of heavy metals in the water of Chaohu Lake, Anhui, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, p. 1-11, 2012.
- LI, S.; ZHANG, Q. Risk assessment and seasonal variations of dissolved trace elements and heavy metals in the Upper Han River, China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, n. 1-3, p. 1051-1058, 2010.
- LIANG, Z.; HE, Z.; ZHOU, X.; POWELL, C. A.; YANG, Y.; HE, L. M.; STOFFELLA, P. J. Impact of mixed land-use practices on the microbial water quality in a subtropical coastal watershed. **Science of the Total Environment**, v. 449, n. 0, p. 426-433, 2013.
- LIU, J.; WANG, J.; CHEN, Y.; QI, J.; LIPPOLD, H.; WANG, C. Thallium Distribution in Sediments from the Pearl River Basin, China. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 38, n. 10, p. 909-915, 2010.
- LOBO, M. L.; XIAO, L.; ANTUNES, F.; MATOS, O. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia genotypes and subtypes in raw and treated water in Portugal. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, n. 6, p. 732-737, 2009.

LOWE, W. H.; LIKENS, G. E. Moving headwater streams to the head of the class. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 196-197, 2005.

LUDWIG, K. M.; FREI, F.; ALVARES FILHO, F.; RIBEIRO-PAES, J. T. Correlation between sanitation conditions and intestinal parasitosis in the population of Assis, State of São Paulo. **Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo.**, v. 32, n. 5, p. 547-555, 1999.

MAIER, M. H. Ecologia da bacia do rio Jacaré Pepira (47°55' – 48°55'W; 22°30' – 21°55'S – Brasil): qualidade da água do rio principal. **Ciência e Cultura**, v. 39, n. 2, p. 164-185, 1987.

MARGULIS, S.; HUGHES, G. G., M.; AZEVEDO, L. G. T. **A gestão da qualidade da água: inserção de temas ambientais na agenda do setor hídrico. Brasília: Banco Mundial**, 2002.

MARI, M.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Monitoring PCDD/Fs, PCBs and metals in the ambient air of an industrial area of Catalonia, Spain. **Chemosphere**, v. 73, n. 6, p. 990-998, 2008.

MASSART, D. L.; KAUFMAN, L. **The Interpretation of Analytical Chemical Data by the Use of Cluster Analysis**. New York: Wiley, 1983.

MISHRA, A. Assessment of water quality using principal component analysis: A case study of the river Ganges. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 32, n. 4, p. 227-234, 2010/08/01 2010.

MONS, C.; DUMÈTRE, A.; GOSSELIN, S.; GALLIOT, C.; MOULIN, L. Monitoring of Cryptosporidium and Giardia river contamination in Paris area. **Water Research**, v. 43, n. 1, p. 211-217, 2009.

MORRISON, C. R.; BACHOON, D. S.; GATES, K. W. Quantification of enterococci and bifidobacteria in Georgia estuaries using conventional and molecular methods. **Water Research**, v. 42, n. 14, p. 4001-4009, 2008.

NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Metal pollution of soils and vegetation in an area with petrochemical industry. **Science of the Total Environment**, v. 321, n. 1-3, p. 59-69, 2004.

_____. Long-term environmental monitoring of persistent organic pollutants and metals in a chemical/petrochemical area: Human health risks. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 7, p. 1769-1777, 2011.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11^o ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

NIKAIDO, M.; OLIVEIRA, A. S.; TREVILATO, T. M. B.; SEGURA-MUNÕZ, S. I. Análise da qualidade de água do córrego Monte Alegre e afluentes, Ribeirão Preto: enfoque para coliformes fecais e metais pesados. **O Mundo da Saúde**, v. 28, n. 4, p. 414-420, 2004.

O'NEILL, S.; ADHIKARI, A. R.; GAUTAM, M. R.; ACHARYA, K. Bacterial contamination due to point and nonpoint source pollution in a rapidly growing urban center in an arid region. **Urban Water Journal**, 2013.

OKOH, A. I.; ODJADJARE, E. E.; IGBINOSA, E. O.; OSODE, A. N. Wastewater treatment plants as a source of microbial pathogens in receiving watersheds. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 25, p. 2932-2944, 2007.

PANIZZON, J. P.; MACEDO, V. R. M.; MACHADO, V.; FIUZA, L. M. Microbiological and physical-chemical water quality of the rice fields in Sinos River's basin, Southern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 3, p. 2767-2775, 2013.

PEIRANO, M., M., F. Remoção de Metais Pesados no Tratamento Biológico – Sistema Biológico Tipo Lodos Ativados. **Revista Gerenciamento Ambiental**, v. 24, p. 51-53, 2003.

PICKERING, L., K.; ENGELKIRK, P. G. Giardia lamblia. **Pediatric Clinics of North America**, v. 35, p. 565-577, 1988.

RAVIRAJA, A.; VISHAL BABU, G. N.; BIJOOR, A. R.; MENEZES, G.; VENKATESH, T. Lead toxicity in a family as a result of occupational exposure. **Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju**, v. 59, n. 2, p. 127-133, 2008.

RAZZOLINI, M. T. P.; SANTOS, T. F. D. S.; BASTOS, V. K. Detection of Giardia and Cryptosporidium cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas. **Journal of Water and Health**, v. 8, n. 2, p. 399-404, 2010.

REDEDASÁGUAS. Comitê de Bacias. Disponível em <http://www.rededasaguas.org.br/comite/comite_01.asp>. Acesso em 05 mar. 2009. . 2001.

RIXEN, T.; BAUM, A.; SEPRYANI, H.; POHLMANN, T.; JOSE, C.; SAMIAJI, J. Dissolved oxygen and its response to eutrophication in a tropical black water river. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 8, p. 1730-1737, 2010.

RODRIGUES, A. S. L. Uma visão holística sobre os ecossistemas fluviais. **Revista da Biologia**, v. 2, n. jun, p. 8-11, 2009.

ROIG, N.; NADAL, M.; SIERRA, J.; GINEBRED, A.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Novel approach for assessing heavy metal pollution and ecotoxicological status of rivers by means of passive sampling methods. **Environment International**, v. 37, n. 4, p. 671-677, 2011.

ROQUE, O. C. C. **Sistemas Alternativos de Tratamento de Esgotos Aplicáveis as Condições Brasileiras**. 1997. -Tese de Doutorado em Saúde Pública, FIOCRUZ – Rio de Janeiro, 153 p. ,

ROSE, J. B. Occurrence and significance of cryptosporidium in water. **Journal / American Water Works Association**, v. 80, n. 2, p. 53-58, 1988.

ROVIRA, J.; MARI, M.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Environmental monitoring of metals, PCDD/Fs and PCBs as a complementary tool of biological surveillance to assess human health risks. **Chemosphere**, v. 80, n. 10, p. 1183-1189, 2010.

SATO, M. I. Z.; GALVANI, A. T.; PADULA, J. A.; NARDOCCI, A. C.; LAURETTO, M. D. S.; RAZZOLINI, M. T. P.; HACHICH, E. M. Assessing the infection risk of Giardia and Cryptosporidium in public drinking water delivered by surface water systems in Sao Paulo State, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 389-396, 2013.

SAVICHTCHEVA, O.; OKABE, S. Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. **Water Research**, v. 40, n. 13, p. 2463-2476, 2006.

SCHAFFNER, M.; BADER, H. P.; SCHEIDEGGER, R. Modeling the contribution of point sources and non-point sources to Thachin River water pollution. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 17, p. 4902-4915, 2009.

SCHILLING, K. E.; ZHANG, Y.-K.; HILL, D. R.; JONES, C. S.; WOLTER, C. F. Temporal variations of Escherichia coli concentrations in a large Midwestern river. **Journal of Hydrology**, v. 365, n. 1-2, p. 79-85, 2009.

SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L.; GARRETA, J. Pollutants emitted by a cement plant: health risks for the population living in the neighborhood. **Environmental Research**, v. 95, n. 2, p. 198-206, 2004.

SEGURA-MUÑOZ, S. I.; DA SILVA OLIVEIRA, A.; NIKAIIDO, M.; TREVILATO, T. M. B.; BOCIO, A.; TAKAYANAGUI, A. M. M.; DOMINGO, J. L. Metal levels in sugar cane (Saccharum spp.) samples from an area under the influence of a municipal landfill and a medical waste treatment system in Brazil. **Environment International**, v. 32, n. 1, p. 52-57, 2006.

SHIKLOMANOV, I. **World Water Resources - A new appraisal and assessment for 21st. century. Paris: UNESCO 37**, p. 37, 1998.

SHIN, J. Y.; ARTIGAS, F.; HOBBLE, C.; LEE, Y. S. Assessment of anthropogenic influences on surface water quality in urban estuary, northern New Jersey: Multivariate approach. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 3, p. 2777-2794, 2013.

SIGRH. (Sistema de Informação para a Gestão dos Recursos Hídricos do Estado de São Paulo). Comitês de bacia. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/cgi-bin/sigrh_home_colegiado.exe?TEMA=RELATORIO&COLEGIADO=CRH/CBH-PARDO&lwgactw=794540 2009.

_____. (Sistema de Informação para a Gestão dos Recursos Hídricos do Estado de São Paulo). Comitês de bacia. Disponível em: http://www.sigrh.sp.gov.br/sigrh/ARQS/RELATORIO/CRH/CBH-PARDO/1494/relatorio_situacao_2010_cbhpardo.pdf. 2010.

SILVA, A. E. P.; ANGELIS, C. F.; MACHADO, L. A. T.; WAICHAMAN, A. V. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. **Acta Amazonica**, v. 38, p. 733-742, 2008.

SILVA, A. F.; LIMA, G. R. S.; ALVES, J. C.; SANTOS, S. H.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. P. H.; ARAUJO, R. G. O.; PASSOS, E. A. Evaluation of trace metal levels in surface sediments of the Sergipe River Hydrographic Basin, Northeast Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 9, p. 1669-1679, 2012.

SILVA, E. F.; GOMES, M. Amebíase: Entamoeba histolytica / Entamoeba díspar. In: NEVES, D. P. (Ed.). **Parasitologia Humana**: 11^o ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

SKOTARCZAK, B. Methods for parasitic protozoans detection in the environmental samples. **Parasite**, v. 16, n. 3, p. 183-190, 2009.

SMITH, H. V.; ROBERTSON, L. J.; ONGERTH, J. E. Cryptosporidiosis and giardiasis: The impact of waterborne transmission. **Aqua London**, v. 44, n. 6, p. 258-274, 1995.

SOLARAJ, G.; DHANAKUMAR, S.; RUTHARVEL MURTHY, K.; MOHANRAJ, R. Water quality in select regions of Cauvery Delta River basin, southern India, with emphasis on monsoonal variation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 166, n. 1-4, p. 435-444, 2010.

SREEDEVI, C.; RAVI KUMAR, P.; JYOTHISREE, C. Hymenolepiosis in a group of albino rats (*Rattus albus*): a study. **Journal of Parasitic Diseases**, p. 1-3, 2013.

SU, S.; XIAO, R.; MI, X.; XU, X.; ZHANG, Z.; WU, J. Spatial determinants of hazardous chemicals in surface water of Qiantang River, China. **Ecological Indicators**, v. 24, n. 0, p. 375-381, 2013.

SUTHAR, S.; CHHIMPA, V.; SINGH, S. Bacterial contamination in drinking water: a case study in rural areas of northern Rajasthan, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 159, n. 1-4, p. 43-50, 2009.

SUTHAR, S.; SHARMA, J.; CHABUKDHARA, M.; NEMA, A. K. Water quality assessment of river Hindon at Ghaziabad, India: Impact of industrial and urban wastewater. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 165, n. 1-4, p. 103-112, 2010.

TAVARES, A. R. Monitoramento da qualidade das águas do rio Paraíba do Sul e diagnóstico de conservação. Dissertação de Mestrado, Instituto Tecnológico de Aeronáutica-ITA, São José dos Campos, São Paulo. 176pp., 2005.

THOMPSON, R. C. A. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1259-1267, 2000.

TOMAZELLI, A. C.; MARTINELLI, L. A.; KRUG, F. J.; SANTOS, D.; RUFFINI, I.; BARBOSA DE CAMARGO, P.; HORVAT, M. Mercury Distribution in Medium-Size Rivers

and Reservoirs of the São Paulo State (Southeast Brazil). **J. Environ. Qual.**, v. 36, n. 2, p. 478-486, 2007/3 2007.

TONANI, K. A. A.; JULIÃO, F. C.; TREVILATO, T. M. B.; TAKAYANAGUI, A. M. M.; BOCIO, A.; DOMINGO, J. L.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Behavior of metals, pathogen parasites, and indicator bacteria in sewage effluents during biological treatment by activated sludge. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 2, p. 1193-1201, 2011.

USEPA. (United States Environmental Protection Agency). Ambient Water Quality Criteria for Bacteria. US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 1986.

_____. (United States Environmental Protection Agency). 1989. Risk Assessment Guidance for Superfund: Volume 1—Human Health Evaluation Manual. Part A. Interim Final. EPA/540/1-89/002. Office of Emergency and Remedial Response, Washington, DC, USA. 1989.

_____. (United States Environmental Protection Agency). Quantitative Uncertainty Analysis of Superfund Residential Risk Pathway Models for Soil and Groundwater: White Paper. Office of Health and Environmental Assessment, Oak Ridge, TN, USA. 1996.

_____. (United States Environmental Protection Agency). Guiding Principles for Monte Carlo Analysis. EPA/630/R-97/001. Risk assessment Forum, Washington, DC, USA. 1997.

_____. (United States Environmental Protection Agency). Supplemental Guidance for Developing Soil Screening Levels for Superfund Sites. Appendix D—Dispersion Factors Calculations. OSWER 9355.4-24. Washington, DC, USA. 2002.

_____. (United States Environmental Protection Agency). . Office of Water. Washington DC. Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in water by filtration/IMS/FA. EPA-821-R-01-025, 2005., 2005a.

_____. (United States Environmental Protection Agency). The Risk Assessment Information System. RAIS. Disponível em: <http://rais.ornl.gov/>. . 2005b.

_____. (United States Environmental Protection Agency). Framework for Metals Risk Assessment. Washington, DC, USA., 2007.

_____. (United States Environmental Protection Agency). The Risk Assessment Information System. RAIS. Available at <http://rais.ornl.gov/tox/profiles/cadmium.html>. 2009.

_____. (United States Environmental Protection Agency). Summaries of water pollution reporting categories. In: USEPA Office of Water HaECDE, editor. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 2012.

VAN STRAALLEN, N. M. **Ecotoxicology**. In: NIESINK, R. J.; VRIES, J.; HOLLINGER, M. A. **Toxicology**. New York: Boca Raton, 1996.

VAZ, A. J. Diagnóstico imunológico das parasitoses. In: DE CARLI, A. G. (Ed.). **Parasitologia Clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**: São Paulo: Editora Atheneu. p. 505-539, 2001.

VEGA, M.; PARDO, R.; BARRADO, E.; DEBÁN, L. Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3581-3592, 1998.

VIANA, S. G. F. Amebíase. In: AMATO NETO, V.;GRYSCHKE, R. C. B.;AMATO, V. S. e TUON, F. F. (Ed.). **Parasitologia. Uma abordagem clínica**: 1a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.p. 17-27.

VOEGBORLO, R., B., ; EL-METHNANI, A., M., ; ABEDIN, M., Z. Mercury, cadmium and lead content of canned tuna fish. **Food Chemistry**, v. 67, p. 341-345, 1999.

WALKER, C. H.; HOPKINS, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. **Principles of ecotoxicology**. 2. ed. London: Taylor & Francis., 2001.

WANG, Y.; WANG, P.; BAI, Y.; TIAN, Z.; LI, J.; SHAO, X.; MUSTAVICH, L. F.; LI, B.-L. Assessment of surface water quality via multivariate statistical techniques: A case study of the Songhua River Harbin region, China. **Journal of Hydro-environment Research**, v. 7, n. 1, p. 30-40, 2013.

WARNECKE, M.; WEIR, C.; VESEY, G. Evaluation of an internal positive control for Cryptosporidium and Giardia testing in water samples. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 244-248, 2003.

WENNING, R. J.; ERICKSON, G. A. Interpretation and analysis of complex environmental data using chemometric methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 446-457, 1994.

WHO. (World Health Organization). Métodos básicos de laboratório en parasitologia medica. Genebra. 1992.

_____. (World Health Organization). Considerations in Evaluating the Cost-effectiveness of Environmental Health Interventions. Geneva. 2000.

_____. (World Health Organization). Environmental Health Criteria 234. Elemental Speciation In Human Health Risk Assessment. Available at: <http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc234.pdf>. 2006a.

_____. (World Health Organization). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater; Volume 1: Policy and regulatory aspects. World Health Organisation, Geneva. 2006b.

_____. Health topics. Disponível em <<http://www.who.int/features/qa/70/en/index.html>> Acesso em 22 set. 2011. 2008.

_____. (World Health Organization). Exposure to arsenic: a major public health concern. Available at: <http://www.who.int/ipcs/features/arsenic.pdf>, accessed in 03/20/2012., 2010.

_____. (World Health Organization). Air quality and health. Fact sheet N°313. Updated September 2011. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/en/index.html>. Acesso em: 20 fev 2013. 2011a.

_____. (World Health Organization). Guidelines for drinking-water quality. Fourth ed. Geneva. 2011b.

WILKES, G.; EDGE, T. A.; GANNON, V. P. J.; JOKINEN, C.; LYAUTEY, E.; NEUMANN, N. F.; RUECKER, N.; SCOTT, A.; SUNOHARA, M.; TOPP, E.; LAPEN, D. R. Associations among pathogenic bacteria, parasites, and environmental and land use factors in multiple mixed-use watersheds. **Water Research**, v. 45, n. 18, p. 5807-5825, 2011.

WU, B.; ZHANG, Y.; ZHANG, X.; CHENG, S. Health risk from exposure of organic pollutants through drinking water consumption in Nanjing, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 84, n. 1, p. 46-50, 2010.

XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1239-1255, 2008.

XIAO, T.; YANG, F.; LI, S.; ZHENG, B.; NING, Z. Thallium pollution in China: A geo-environmental perspective. **Science of the Total Environment**, v. 421-422, p. 51-58, 2012.

YANG, H. J.; SHEN, Z. M.; ZHANG, J. P.; WANG, W. H. Water quality characteristics along the course of the Huangpu River (China). **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, n. 10, p. 1193-1198, 2007.

YI, Y.; YANG, Z.; ZHANG, S. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2575-2585, 2011.

YÜZEREROĞLU, T.; GÖK, G.; ÇOĞUN, H.; FIRAT, Ö.; ASLANYAVRUSU, S.; MARULDALI, O.; KARGIN, F. Heavy metals in *Patella caerulea* (Mollusca, Gastropoda) in polluted and nonpolluted areas from the Iskenderun Gulf (Mediterranean Turkey). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 167, n. 1, p. 257-264, 2010.

ZARE GARIZI, A.; SHEIKH, V.; SADODDIN, A. Assessment of seasonal variations of chemical characteristics in surface water using multivariate statistical methods. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 8, n. 3, p. 581-592, 2011.

ZHOU, T.; FAN, Y.; YUAN, F.; COOKE, D.; ZHANG, X.; LI, L. A preliminary investigation and evaluation of the thallium environmental impacts of the unmined Xiangquan thallium-only deposit in Hexian, China. **Environmental Geology**, v. 54, n. 1, p. 131-145, 2008.