Autarquia associada à Universidade de São Paulo

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ÁGUA E SEDIMENTO DO RIO CUBATÃO-SP

VANESSA SILVA GRANADEIRO GARCIA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na
Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientador (a):

Prof. Dr. Sueli Ivone Borrely

SÃO PAULO

2012

INSTITUTO DE PEQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada a Universidade de São Paulo

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ÁGUA E SEDIMENTO
DO RIO CUBATÃO- SP**

VANESSA SILVA GRANADEIRO GARCIA

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:

Dra. Sueli Ivone Borrely

SÃO PAULO

2012

Dedico este trabalho a todos que em algum
momento fizeram parte do meu caminho, e me
ajudaram nesta trajetória, em especial a minha família
e ao meu noivo Cris.

"É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores,
mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático,
como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem,
que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros.
Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem
vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida..."

Bob Marley

Agradecimentos

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

À Dr^a. Sueli Ivone Borrelly pelos ensinamentos, contribuições e dedicação, desde a minha Iniciação Científica.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro durante este trabalho.

Ao Instituto Butantan, em especial a Dr^a. Eliana Nakano, Cristina e Alex do laboratório de malacologia, por toda ajuda, empenho e contribuição para este trabalho.

Ao Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN-CRPq, IPEN), em especial a Dr^a. Deborah Inês Teixeira Fávaro pelas análises dos sedimentos, amizade e disponibilidade.

A Fundação de Estudos e Pesquisas Aquáticas (FUNDESPA) pelo auxílio com o equipamento para a coleta de sedimento.

À todos do laboratório de ecotoxicologia do CTR/IPEN: Letícia, Alessandro, Dymes, Gabriel, Neto, Rebeca, Renata, Natália, Marcela, Lenita, Anna, Karina e Reginaldo.

Aos meus companheiros de coleta: Letícia, Dymes, Gabriel, Régis e Edmilson, obrigada pela imensa ajuda e pelas risadas!

À todos os meus colegas e amigos, que compartilharam comigo os momentos de aflições e de alegria.

A minha família pelo apoio e incentivo.

Ao Cris, por estar sempre ao meu lado, por todo amor, dedicação e compreensão em todos os momentos.

À minha mãe, pela imensa ajuda nesses últimos tempos.

Agradeço a Deus pela força, ensinamentos, tudo que me proporcionou até o momento e por mais esta conquista.

AValiação DA TOXICIDADE EM ÁGUA E SEDIMENTO DO RIO CUBATÃO-SP

Vanessa Silva Granadeiro Garcia

RESUMO

O monitoramento de corpos hídricos receptores de efluentes pode ajudar na manutenção e conservação desses locais, pois os poluentes podem alterar o equilíbrio, a estrutura e o funcionamento do ecossistema. Neste aspecto, o estudo em sedimentos é importante ao permitir uma avaliação mais abrangente do ecossistema aquático, onde diferentes contaminantes podem estar associados ao sedimento em concentrações superiores às das águas, podendo resultar em impactos negativos à biota aquática, a depender da biodisponibilidade. A cidade de Cubatão abriga um dos maiores pólos industriais do Brasil, onde a descarga constante de efluentes industriais e domésticos no rio Cubatão e seus afluentes acabou ocasionando um panorama de degradação dos rios. A Bacia do Rio Cubatão esta localizada entre a Grande São Paulo e a Baixada Santista, com área de 177 km², aproximadamente. O rio Cubatão é o principal rio da região, abastecendo as cidades de Cubatão, Santos, São Vicente e parte dos municípios de Praia Grande e Guarujá. Além do abastecimento de água para a população, o rio também abastece o pólo industrial de Cubatão. O objetivo deste trabalho foi avaliar efeitos agudos e crônicos de amostras de água e de sedimento do rio Cubatão e dois de seus afluentes (Perequê e Pilões), por meio de ensaios ecotoxicológicos. Os organismos aquáticos empregados nos ensaios foram *Ceriodaphnia dubia* e *Vibrio fischeri* para avaliação de água e *Hyalella azteca* para avaliação de sedimento integral. A análise de crescimento corpóreo destes últimos também foi realizada. Além disso, foram realizadas Análises Químicas Instrumentais e Análise por Ativação Neutrônica em amostras de sedimentos. O estudo foi realizado entre 2010 e 2011, totalizando quatro campanhas. Foram coletadas amostras de água em nove pontos da Bacia do Rio Cubatão, e amostras de sedimento em seis pontos. Através dos ensaios realizados com *V. fischeri* pôde ser verificada toxicidade em todos os pontos amostrados com valores de CE(I)50 que variaram entre 31,25% e 71,61%. Os resultados obtidos com exposição de *C. dubia* não identificaram toxicidade, com base na análise estatística utilizada (Teste “t” por bioequivalência). Os ensaios de toxicidade para efeitos agudos do sedimento integral em *H.azteca* resultaram em toxicidade para as amostras de P2 e P5 (2ª e 4ª campanhas), com uma mortalidade superior a 50% dos organismos expostos. A análise de crescimento corpóreo identificou menor crescimento corpóreo nos organismos expostos ao sedimento coletado em P4 e P5. Com relação aos sedimentos coletados no ponto P5, os compostos endrin, dibenzeno(a,h)antraceno e antraceno ultrapassaram os valores recomendados pela Resolução Conama 344/04. Os resultados das Análises por Ativação Neutrônica evidenciaram maior contaminação por metais nos sedimentos originários de P5 e PI.

ASSESSMENT OF TOXICITY IN WATER AND SEDIMENT FROM CUBATÃO RIVER - SP

Vanessa Silva Granadeiro Garcia

ABSTRACT

The monitoring of water quality on rivers where wastewaters are discharged may be important for the general conservation once many pollutants may alter the ecosystem balance, and life functioning. To study sediments contamination is an important tool that allows a more comprehensive assessment of the aquatic ecosystem, since many contaminants can be associated to the sediment in higher concentrations than in water and may result in negative impacts on aquatic biota. The Cubatão district is one of the largest industrial centers of Brazil. The usual discharge of industrial effluents and domestic sewage into Cubatão and its tributaries ended up causing serious waterways degradation. Cubatão River Basin is located between São Paulo and Baixada Santista (coast), covering approximately 177km² area. Cubatão River as the main water source for the region, supplying water to Cubatão and its industrial area, and also to Santos, São Vicente and partially to Praia Grande and Guarujá municipalities. The objective of this study was to assess the toxicity for aquatic organisms concerning water and sediment sampled at Cubatão and at two tributaries (Perequê and Pilões). Chemical determinations were included in order to try identify the possible relation between biological effects. *Ceriodaphnia dubia* and *Vibrio fischeri* were used for evaluation of water effects while *Hyalella azteca* were exposed to the sediments. Biometric analysis were performed on *Hyalella azteca*. Furthermore, chemical identification by Chromatography and Neutron Activation Analysis were carried out in sediment samples. Through *V. fischeri* toxicity response it could be noted signs of effects once the EC(I)₅₀ ranged from 31.25% up to 71.61%. *C. dubia* results were negative to the same samples, based on statistical analysis (test "t" for bioequivalence). Through acute toxicity responses when *H. azteca* was exposed to sediments, toxicity was identified in samples from P2 and P5 (2nd and 4th campaigns): mortality exceeding 50% of exposed organisms. The biometric analysis for the *H. azteca* growth showed lower values for organisms exposed to sediments from P4 and P5. Chemical analysis evidenced endrin, dibenzo(a, h) anthracene and anthracene at sediments from P5, values which are not in accordance with the Conama 344/04; Neutron Activation Analysis showed high concentrations of metals for samples from the sites P5 and PI.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Ocupação, uso do solo e dados da abrangência do projeto.....	13
2. OBJETIVOS	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. Histórico da ocupação e uso do solo - desenvolvimento industrial em Cubatão	17
3.2. Estudos Ambientais na região de Cubatão	20
3.3. Ecotoxicologia.....	25
3.3.1. Ensaio de toxicidade: organismos teste.	26
3.4. Avaliação da qualidade dos sedimentos	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1. Locais de amostragem e procedimentos com as amostras ambientais	32
4.2. Manutenção dos organismos-teste em laboratório.....	37
4.2.1. Água de diluição e cultivo.....	37
4.2.2. Cultivo de <i>Ceriodaphnia dubia</i>	38
4.2.3. Cultivo do anfípoda - <i>Hyalella azteca</i>	38
4.2.4. <i>Vibrio fischeri</i>	39
4.3. Ensaio de toxicidade	40
4.3.1. Ensaio de toxicidade aguda em água – <i>Vibrio fischeri</i>	40
4.3.2. Ensaio de toxicidade crônica em água- <i>Ceriodaphnia dubia</i>	41
4.3.3. Ensaio de toxicidade aguda em sedimento integral - <i>Hyalella azteca</i>	43
4.3.4. Análise de Crescimento Corpóreo – <i>Hyalella azteca</i>	46
4.4. Determinação de contaminantes no sedimento	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1. Ensaio de toxicidade	50
5.1.1. Análise de crescimento corpóreo - <i>Hyalella azteca</i>	60
5.2. Análises físico-químicas realizadas em amostras de água.....	66
5.3. Determinação de contaminantes: Análise por Ativação Neutrônica e Análise Química do sedimento.....	72
5.4. Análise granulométrica do sedimento	81
5.5. Ensaio de sensibilidade e carta-controle.....	83
5.6. Correlação de Pearson.....	85
6. CONCLUSÕES	88
Recomendações.....	89
APÊNDICES.....	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

Lista de Tabelas

TABELA 1. Exemplos de produtos de Cubatão na produção nacional (Fonte: Ciesp/ Cubatão, 2011).	19
TABELA 2. Número de fontes de poluição identificadas e controladas em Cubatão (ar, solo e água), entre os anos de 1984 e 1988 (CETESB, 1989).	22
TABELA 3. Lançamento de poluentes industriais nos rios e estuários de Cubatão, em toneladas por ano (Fonte: Lamparelli <i>et al.</i> , 2001).	22
TABELA 4. Média anual dos Índices de Qualidade da Água (Relatórios de Águas Interiores da CETESB, 2002-2011).	24
TABELA 5. Descrição e referenciais dos locais de amostragem.	33
TABELA 6. Valores de CE ₅₀ obtidos na exposição de <i>Vibrio fischeri</i> à água do Rio Cubatão, com intervalos de confiança	51
TABELA 7. Média de neonatas de <i>C. dubia</i> obtida, por ponto analisado, nas quatro campanhas do estudo	54
TABELA 8. Classificação dos resultados dos ensaios de toxicidade após análise estatística: Teste “t” por bioequivalência para <i>C. dubia</i> e <i>H. azteca</i> e classificação de Bullich (1992) para <i>V. fischeri</i> .	59
TABELA 9. Valores de salinidade (‰) nas amostras de água das 3ª (Fevereiro/2011) e 4ª (Junho/2011) campanhas.	71
TABELA 10. Resultados obtidos (mg kg ⁻¹) para as amostras de sedimento (duplicata) do Rio Cubatão, pela técnica de NAA (irradiações curtas e longas), (concentração e ± desvio padrão), valores UCC e NASC. 2ª campanha (Agosto/2010)	73
TABELA 11. Resultados obtidos (mg kg ⁻¹) para as amostras de sedimento (duplicata) do Rio Cubatão, pela técnica de NAA (irradiações curtas e longas), (concentração e ± desvio padrão), valores UCC e NASC. 3ª campanha (Fevereiro/2011).	74
TABELA 12. Resultados obtidos (µg kg ⁻¹) para metais nas amostras de sedimento do Rio Cubatão, pela técnica de espectrometria de absorção atômica (GF AAS e CV AAS), (concentração e ± desvio padrão), na 2ª campanha (Cd, Hg e Pb) e 3ª campanha (Hg).	75
TABELA 13. Metais quantificados nas amostras de sedimento do Rio Cubatão na 4ª campanha (mg kg ⁻¹)	75
TABELA 14. Resultados dos parâmetros: carbono orgânico, nitrogênio amoniacal e total e fósforo nas amostras de sedimento (4ª campanha) e valores permissíveis pela legislação Conama 344/04	76
TABELA 15. Compostos orgânicos quantificados nas amostras de sedimento do Rio Cubatão na 4ª campanha (µg kg ⁻¹). E valores permissíveis pela legislação Conama para águas salina e salobra.	77
TABELA 16. HPAs determinados em sedimentos do Rio Cubatão e Baixada Santista.	80
TABELA 17. Granulometria do sedimento (4ª campanha), em g kg ⁻¹	82
TABELA 18. Classificação do coeficiente de correlação de Pearson.	86
TABELA 19. Valores do coeficiente de Pearson (r) e correlação entre metais no sedimento (NAA e Cromatografia) e os resultados de toxicidade para <i>H. azteca</i>	86
TABELA 20. Valores do coeficiente de Pearson (r) e correlação entre os resultados de toxicidade para <i>H. azteca</i> e alguns compostos orgânicos encontrados no sedimento (4ª campanha)	87

Lista de Figuras

FIGURA 1. Mapa da Bacia Hidrográfica de Cubatão. (Ferreira <i>et al.</i> , 2008).....	14
FIGURA 2. Intensidade de chuvas mensais e anuais no Estado de São Paulo. (CETESB, 2010).	15
FIGURA 3. Principais atividades industriais de Cubatão em toneladas/ano, 2010.(Fonte: Ciesp/ Cubatão, 2011).	19
FIGURA 4. Classificação de contaminantes químicos em cinco faixas de qualidade e sua relação com os critérios TEL e PEL. (Fonte: CETESB, 2011).	29
FIGURA 5. Elementos que compõem a caracterização do Critério de Avaliação da Qualidade dos Sedimentos. (CETESB, 2011).	30
FIGURA 6. Fotografia com indicação dos pontos amostrados no Rio Cubatão (P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6), Rio Perequê (PE) e Rio Pilões (PI).....	34
FIGURA 7. Rio Cubatão, próximo aos limites do Parque Ecológico Itutinga Pilões (P0).	35
FIGURA 8. Canal de Fuga II da Usina Hidroelétrica Henry Borden (P1)	35
FIGURA 9. Rio Cubatão, próximo a ETA Cubatão (P2).	35
FIGURA 10. Canal de Fuga I da Usina Hidroelétrica Henry Borden (P3).	35
FIGURA 11. Rio Cubatão, próximo ao hospital Ana Costa, a jusante da CBE (P4).	35
FIGURA 12. Rio Cubatão, próximo a salina da Carbocloro S.A. Ind. Quim. (P5).	35
FIGURA 13. Rio Cubatão, a jusante da RBPC e da Fosfertil (P6).	36
FIGURA 14. Rio Perequê, a jusante do Parque Ecológico do Perequê (PE)	36
FIGURA 15. Rio Pilões, Parque Itutinga Pilões (PI).....	36
FIGURA 16. Fotografia do Ribeirão do Pirai –Salto/SP.	37
FIGURA 17. Cristalizador contendo cerca de 150 <i>H. azteca</i>	39
FIGURA 18 a. Bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i>	41
FIGURA 18 b. Sistema Microtox®.	41
FIGURA 19. Fotografia do organismo <i>C. dubia</i> (Fonte: Romanelli, M.F.- LEBA, 2004)..	41
FIGURA 20. Montagem do ensaio com <i>C. dubia</i>	42
FIGURA 21. Fotografia do organismo <i>H. azteca</i>	43
FIGURA 22. Montagem do ensaio com sedimento integral para exposição de <i>H. azteca</i>	44
FIGURA 23. Peneiramento do sedimento.	45
FIGURA 24. <i>Hyalella azteca</i> (Fonte: USEPA, 2000).....	47
FIGURA 25. <i>Hyalella azteca</i> , com marcação do comprimento do organismo em µm da base do 3º urópode até a base da 1ª antena.	47
FIGURA 26. CE ₅₀ obtidas nos ensaios em <i>V. fischeri</i> em amostras de águas, em função do período amostrado, e respectivos desvios padrão.	52
FIGURA 27. Média de neonatos de <i>C. dubia</i> obtida da exposição à água, em função do período amostrado, com respectivos desvios padrão.....	53
FIGURA 28. Média de neonatas de <i>C. dubia</i> obtida das quatro campanhas realizadas no estudo, com desvio padrão.	54
FIGURA 29. Porcentagem de sobrevivência de <i>Hyalella azteca</i> durante exposição ao sedimento integral, com respectivos desvios padrão.	56
FIGURA 30. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento integral – P0.	56
FIGURA 31. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento integral – P2.	56
FIGURA 32. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento integral – P4.....	57
FIGURA 33. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento	

integral – P5	57
FIGURA 34. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento integral – PE.....	57
FIGURA 35. Porcentagem de sobrevivência de <i>H. azteca</i> durante exposição ao sedimento integral – PI.....	57
FIGURA 36. Sedimento do ponto P5 no dia da realização da coleta (4ª campanha).	58
FIGURA 37. Sedimento do P5 após realização do ensaio com <i>H. azteca</i>	58
FIGURA 38. Média do comprimento (μm) dos organismos expostos ao sedimento integral, em três campanhas, com desvio padrão.	61
FIGURA 39. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral -P0.....	61
FIGURA 40. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral -P2.....	62
FIGURA 41. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral - P4.....	62
FIGURA 42. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral - P5.....	62
FIGURA 43. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral -PE.	63
FIGURA 44. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral -PI.	63
FIGURA 45. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral, por ponto, durante as três campanhas amostradas, com barra de desvio padrão.....	64
FIGURA 46. Oxigênio dissolvido na água (mg L^{-1}) dos locais monitorados, nas quatro campanhas realizadas.....	67
FIGURA 47. Média dos valores de oxigênio dissolvido nas amostras de água, nas quatro campanhas amostradas.....	67
FIGURA 48. Valores de pH da água no período estudado	68
FIGURA 49. Média dos valores de pH, nas quatro campanhas	68
FIGURA 50. Valores de condutividade da água ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), por ponto e campanha.....	69
FIGURA 51. Média dos valores encontrados para condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), nas quatro campanhas, por ponto analisado.	69
FIGURA 52. Dureza da água ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$), por ponto e campanha	70
FIGURA 53. Dureza da água por ponto amostrado (média de quatro valores, em $\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$).	71
FIGURA 54. Carta controle de sensibilidade de <i>V. fischeri</i> para o fenol.....	84
FIGURA 55. Carta controle de sensibilidade de <i>C. dubia</i> para o KCl	84
FIGURA 56. Carta controle de sensibilidade de <i>H. azteca</i> para o KCl.....	85

1. INTRODUÇÃO

A industrialização aliada à densidade populacional são fatores que vêm contribuindo com o lançamento de contaminantes no ambiente, apesar de todos os esforços que buscam controlar as emissões. O ecossistema aquático vem se destacando, principalmente, pelo descarte de efluentes domésticos e industriais, que mesmo após o tratamento podem ocasionar alterações no corpo hídrico e afetar a biota aquática.

Os efluentes industriais podem introduzir centenas de substâncias potencialmente tóxicas para a biota e ainda comprometer o fornecimento de água de boa qualidade. Além disso, o descarte indevido de efluentes domésticos introduz excesso de matéria orgânica, o que altera a quantidade de oxigênio dissolvido, além de outros efeitos negativos a esse ambiente. Nos grandes centros urbanos, os investimentos para tornar a água própria para consumo são cada vez mais altos e os mananciais utilizados cada vez mais impactados. Com isso, tornam-se necessários investimentos para o tratamento de efluentes, controle da ocupação populacional em áreas de mananciais, fiscalização e punição de indústrias poluidoras, visando à conservação dos corpos hídricos, devendo ainda aprimorar e ampliar o reuso das águas.

Inúmeros estudos vêm sendo realizados com o objetivo de analisar os impactos de poluentes no ambiente aquático. Os ensaios ecotoxicológicos são importante ferramenta que permite avaliar o potencial tóxico de um agente para os organismos vivos e prevenir efeitos, quando bem aplicados, além de estabelecerem limites permissíveis de lançamento para várias substâncias químicas visando à proteção da vida aquática.

A cidade de Cubatão abriga um importante pólo industrial do país, que desde a década de 40 vem introduzindo centenas de poluentes no meio (ar, águas e no solo), mas que também trouxe desenvolvimento social e econômico. O rio Cubatão, ao longo dos anos, vêm sendo utilizado como um receptor de efluentes, muitas vezes, sem o devido tratamento, apesar de todos os esforços já implementados em gestão ambiental. Diante destes aspectos, o monitoramento das águas do Rio Cubatão e seus afluentes torna possível ações para que os descarte de efluentes industriais e domésticos sejam controlados, adequadamente.

O presente estudo foi dedicado à avaliação de toxicidade em águas e sedimentos do Rio Cubatão, além de outros dois locais aparentemente menos impactados que são os Rios Pilões e Perequê.

1.1. Ocupação, uso do solo e dados da abrangência do projeto

A cidade de Cubatão possui área de 148 km², está a 57 km da capital paulista e a 16 km de Santos e São Vicente e faz divisa com os municípios de São Bernardo do Campo, Santo André, Santos e São Vicente. Atualmente, a cidade de Cubatão possui população de 116.010 habitantes (IBGE, 2010). Devido ao crescimento industrial observado, principalmente à partir de 1950, com a criação da Refinaria Presidente Bernardes, Cubatão passou por um processo de aumento populacional: bairros periféricos como Cota, Água Fria e Pilões, ainda não possuem rede de coleta de esgoto, sendo este descartado no rio Cubatão, sem nenhum tratamento. Além disso, a cidade coleta apenas 36% de esgoto, e trata aproximadamente 70% (Ferreira *et al.*, 2008).

Em monitoramento no rio Cubatão, realizado pela Cetesb na década de 80, foram detectados elevados níveis de substâncias tóxicas nos sedimentos do rio, sendo parcialmente liberadas do sedimento para a coluna d'água, podendo induzir efeitos para os organismos desses locais (CETESB, 1983). A intensa poluição industrial proveniente do pólo e as atividades decorrentes de habitações irregulares, ao longo destas décadas, foram fatores que contribuíram para a degradação dos corpos d' água, da atmosfera e da vegetação na região (Carmo & Silva, 2007).

Devido à proximidade com a Serra do Mar, os rios em Cubatão possuem pequeno curso e grande velocidade. Os mais conhecidos são os rios Cubatão, Mogi, Perequê e Pilões. Além destes, fazem parte da bacia os rios: Perdido, Mãe Maria, das Pedras, Capivari, Casqueiro, Cascalho, Santana e Paranhos. Em Cubatão, existem rios de planície que possuem nascentes na Serra do Mar e que são responsáveis pelo processo de sedimentação, o que ocasiona a formação de meandros e furados no interior dos manguezais, e também rios de pequeno curso na planície costeira. O encontro desses rios ajuda na formação de canais de maré na região estuarina Santos/São Vicente, e devido ao ciclo de marés, alguns rios entram em contato com as águas salobras do estuário, mais de uma vez ao dia, como no caso dos rios Cubatão e Mogi (Ferreira *et al.*, 2008). O mapa da Bacia hidrográfica de Cubatão consta na figura 1.

rios Mogi e Cubatão, contribuindo para a degradação da vegetação da Serra do Mar (Ferreira *et al.*, 2008).

O índice pluviométrico registrado na cidade de Cubatão, de 2541 mm, é superior a média registrada para o Estado de São Paulo, que no ano de 2010 foi de 1440 mm. Tal índice também é maior quando comparado com a média histórica (1995 a 2009) do Estado de São Paulo, que foi de 1545 mm (Figura 2). No Estado de São Paulo, ocorre um período de estiagem entre abril e setembro, com precipitações mensais inferiores a 100 mm, em 2010 o menor índice pluviométrico registrado foi no mês de agosto. O período úmido compreende outubro a março, sendo, em 2010, o mês de Janeiro o mais chuvoso, com média próxima de 300 mm.

FIGURA 2. Intensidade de chuvas mensais e anuais no Estado de São Paulo (CETESB, 2010).

O clima tropical e o relevo predominante na região são importantes para a manutenção da Mata Atlântica na Serra do Mar, que possui grande biodiversidade de animais e plantas e abundante manancial. Quatro tipos de vegetação caracterizam o bioma Mata Atlântica existente em Cubatão: Floresta de Encosta; Manguezal; Floresta de Restinga e Mata de transição (Gutberlet, 1996).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade em água e sedimento do rio Cubatão, e mais um ponto dos rios Pilões e Perequê, incluindo a realização da análise de crescimento corpóreo dos organismos expostos ao sedimento integral.

As principais etapas do trabalho foram:

- Avaliar a toxicidade aguda em água utilizando o organismo *Vibrio fischeri* e a toxicidade crônica em *Ceriodaphnia dubia*.
- Avaliar a toxicidade aguda em sedimento integral utilizando o organismo *Hyalella azteca*. O efeito dessa exposição também foi estudado pela análise do crescimento corpóreo de *H. azteca* após a exposição.
- A determinação dos principais contaminantes das amostras de sedimento estudadas também foi incluída.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Histórico da ocupação e uso do solo - desenvolvimento industrial em Cubatão

O desenvolvimento industrial, observado na cidade Cubatão a partir da década de 1950, possui antecedentes. A primeira indústria, inaugurada em 1912, foi a Cia. Curtidora Marx, que, posteriormente, viria a ser a Costa Muniz Indústria e Comércio S/A, que instalou-se na cidade devido ao tanino das folhas dos manguezais que eram utilizados para o curtume. A segunda grande indústria foi a Fábrica de Anilinas e Produtos Químicos do Brasil, em 1915, que atuava no ramo de produtos químicos para usos industriais e domésticos. Possuía ligação direta com o manguezal, através do Rio Capivari, que corria por dentro da indústria (Ferreira *et al.*, 2008). Seguindo pela fundação da Cia. Fabril de Papel, terceira indústria de Cubatão, localizando-se na entrada do vale do rio Cubatão, na margem esquerda, em 1922. A empresa construiu sua própria usina hidrelétrica, a primeira no Rio Cubatão, situada próximo à nascente do rio, e também construiu uma pequena ferrovia no rio para o escoamento de produtos (Couto, 2003).

O que até então era considerado sinônimo de crescimento econômico para a cidade e para o Brasil, passou a ser um dos maiores problemas ambientais já registrados, tendo em vista a força das instalações industriais beneficiadas por abertura de estradas, possibilidade de obtenção de energia e água, rios para o abastecimento e lançamento de efluentes, etc. Com o início do desenvolvimento industrial, já podia ser observado os primeiros sinais de prejuízo ao meio ambiente, com início da degradação dos manguezais e contaminação dos rios da região devido ao lançamento de efluentes sem tratamento (Gutberlet, 1996).

Outro marco do crescimento industrial foi a criação da Usina Henry Borden, que teve como objetivo inicial abastecer os trens elétricos da capital, atender à demanda da expansão industrial e gerar energia para a cidade. Entre os anos de 1952 e 1955, devido ao crescimento do pólo, ocorreu a ampliação da capacidade geradora da usina, que passou a operar com até 889.000 kW de potência. A instalação da usina modificou sobremaneira o regime do Rio Cubatão: largura média e águas calmas, com a hidrelétrica, passaram a transportar grande volume de água, com vazão que aumentou de 1 a 3 m³ para 3.000 m³ (Couto, 2003).

Além da Usina, no final da década de 40 iniciou-se a construção de um oleoduto, para o transporte de combustíveis entre o Porto de Santos e a cidade de São Paulo (Couto, 2003). Na década de 50 houve um intenso processo de crescimento industrial em Cubatão. A partir de 1955, com a criação da Petrobras, a Refinaria Presidente Bernardes de Cubatão começou a operar, tornando a região o primeiro pólo petroquímico do Brasil. Além disso, com este crescimento, indústrias no ramo da siderurgia e fertilizantes também se instalaram na região (Zagatto *et al.*, 2008).

A Refinaria Presidente Bernardes (RPBC), durante dez anos, se posicionou como a maior processadora de petróleo do país, além de fornecer ao pólo petroquímico produtos como eteno, propeno, resíduos aromáticos e óleo combustível (Couto, 2003). A RPBC cresceu ao longo das décadas, sendo atualmente responsável pela produção de 11% dos derivados de petróleo (Petrobrás, 2011).

A segunda empresa petroquímica a se instalar em Cubatão foi a Cia. Brasileira de Estireno – CBE, que entrou em funcionamento no ano de 1957. Em seguida instalaram-se na região a Union Carbide do Brasil S/A – Indústria e Comércio, primeira fábrica de polietileno da América Latina e a Cia. Petroquímica Brasileira, entre os rios Perequê e o Mogi (Copebrás). Atualmente, a indústria é uma das maiores fabricantes de fertilizantes fosfatados do Brasil (Copebrás, 2011).

Retomando o histórico do desenvolvimento industrial, em 1958, foi inaugurada a Fábrica de Fertilizantes, Amônia e Eteno da Refinaria Presidente Bernardes (Fafer), que em 1977 foi incorporada à Ultrafétil, também pertencente à Petroquisa, passando a ser denominada Fosfétil em 2004, e posteriormente incorporada à Vale Fertilizantes. Atualmente, a empresa participa na produção nacional de matérias primas para a indústria química e produtos fosfatados e nitrogenados para a produção de fertilizantes (Ferreira *et al.*, 2008; Vale Fertilizantes, 2011). Na década de 60, a Companhia Siderúrgica Paulista - Cosipa (atual Usiminas) foi inaugurada, sendo a primeira a produzir aço estabilizado, seguindo: a Carbocloro S/A – Indústrias Químicas, localizada próxima aos Rios Cubatão e Perequê, (Couto, 2003).

Com intenção de aproveitar os subprodutos das grandes indústrias, como: RPBC, Copebrás, Cosipa (Usiminas), Carbocloro e Ultrafétil (Vale fertilizantes), como matéria-prima ou fornecer a estas empresas insumos básicos de sua linha de produção, surgem novas indústrias em Cubatão, tais como: Clorogil/Rhodia, Cimento Santa Rita, Engeclor, Engebasa, Gespa, Liquid Carbonic, Liquid Química, Hidromar e Petrocoque (Ferreira *et al.*, 2008).

Atualmente, o pólo industrial de Cubatão conta com 25 indústrias, tornando a cidade um dos maiores pólos petroquímicos da América Latina, com uma produção petroquímica de aproximadamente 60% (10430 toneladas/ano), seguida da produção de fertilizantes, siderurgia e química (Figura 3). Alguns produtos como o Fosfato de Amônio e a Gasolina de Aviação são produzidos apenas no pólo de Cubatão, conforme tabela 1.

Após este breve histórico, observa-se que muitas indústrias, estabeleceram - se na região principalmente pela criação da Refinaria Presidente Bernardes, que desencadeou o processo industrial na cidade. Estas instalaram - se próximas a rios importantes da cidade como os rios Cubatão, Perequê e Mogi, que serviam como fornecedores de água para o processo industrial, mas também eram utilizados como locais de descarte dos efluentes industriais.

FIGURA 3. Principais atividades industriais de Cubatão em toneladas/ano, 2010. Fonte: Relatório CIESP Cubatão, 2011.

TABELA 1. Exemplos de produtos de Cubatão na produção nacional. Relatório CIESP Cubatão, 2011.

Participação na Produção Nacional	
DAP - Fosfato Di Amônio	100%
Gasolina de Aviação	100%
Nitrato de Amônio	100%
Nitrato de Amônio de baixa densidade (Ultrapril)	100%
Ácido Clorídrico	66%
Hipoclorito de Sódio	61%
Solventes Aromáticos	51%
Aço Plano	45%
Óleo Diesel	35%
Aço Bruto	22%
Coque de petróleo	20%

3.2. Estudos Ambientais na região de Cubatão

O pólo industrial trouxe grande desenvolvimento econômico para Cubatão e para o país, porém, ocasionou vários problemas ambientais e sociais para a cidade, que na década de 80 foi considerada uma das mais poluídas do mundo, chegando a ser conhecida pela expressão “Vale da Morte”.

O alto nível de poluição na cidade de Cubatão começou a ser detectado na década de 70, sendo associado aos casos de doenças respiratórias em moradores da cidade. Devido ao panorama de degradação, a CETESB implantou, em 1983, um programa de controle da poluição ambiental em Cubatão (“Programa de Recuperação da Qualidade Ambiental de Cubatão”), objetivando o controle de fontes de poluição, apoio técnico às ações de controle, educação ambiental e participação comunitária. Assim, as empresas do pólo foram obrigadas a se adequar as novas condições propostas para o combate à poluição.

Mesmo com o programa em ação, em 1985, foram detectados níveis elevados de chuva ácida em Cubatão, no auge do processo de degradação da vegetação da Serra do Mar, inúmeros deslizamentos na serra colocaram em risco o Pólo Industrial e a população da cidade. Desde a década de 60 já havia deslizamentos na bacia do Rio Cubatão, próximos da Usina Henry Borden e da Via Anchieta, estes também tornaram-se freqüentes nas bacias dos rios Perequê, Mogi e Quilombo. Para contê-los, além do controle da poluição ambiental foi necessária a recuperação da cobertura vegetal das áreas degradadas (Gutberlet, 1996).

A parte da floresta, na Serra do Cubatão, mais atingida pela poluição ficava nas faixas mais elevadas da encosta. Aproximadamente 60% da floresta, situada entre a Estrada Velha (local da Refinaria Presidente Bernardes) e a Serra do Morrão (próxima a Cosipa e indústrias de fertilizantes), foi atingida gravemente. A pior situação ocorreu nas encostas dos vales dos rios Mogi e Cubatão, onde cerca de 80% da cobertura arbórea foi atingida. O material particulado, por reduzir a capacidade fotossintetizante das plantas, também interferia no desenvolvimento destas, sendo a situação agravada pelas emissões de gases tóxicos provenientes da produção industrial, combustão e incineração, prejudicando a vegetação exposta (Ferreira, 2007; Gutberlet, 1996).

Quanto à qualidade das águas, em 1981, a CETESB realizou um estudo com base em coletas realizadas em quatro pontos na bacia do rio Cubatão. No primeiro ponto,

localizado a montante da cidade de Cubatão, a qualidade das águas era boa, assim como nos pontos correspondentes aos canais de fuga I e II da Usina Henry Borden, porém era notória uma queda nos índices de qualidade. Já no ponto próximo ao rio Perequê a situação das águas era pior, sendo detectada poluição neste local. Uma piora em vários parâmetros ambientais também foi verificada, incluindo coliformes fecais e totais, nitrogênio amoniacal e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), indicando a poluição por efluentes domésticos e industriais. Nos pontos a jusante das indústrias nos Rios Cubatão, Perequê e Mogi os resultados mostraram que as águas vinham apresentando uma piora nos índices de toxidez, com valores acima dos padrões para fenol, nitrogênio amoniacal, coliformes fecais e totais, nitrato, DBO e pH baixo (CETESB, 1983; Ferreira, 2007).

Somado à descarga de efluentes industriais e domésticos no rio Cubatão, a represa Billings representou uma fonte potencial de poluição para rio e sistema estuarino. Até 1988, a represa recebia os esgotos e efluentes industriais de praticamente toda a Região Metropolitana de São Paulo, situada na bacia do alto Tietê, devido à reversão do fluxo do rio Pinheiros. Grande parte destes poluentes era transferida para o rio Cubatão pelas águas utilizadas na geração de energia elétrica pela Usina Henry Borden e contribuíram para a poluição do estuário de Santos. Somente a partir de 1992, com a suspensão do bombeamento das águas do rio Pinheiros, a Billings reduz o impacto negativo da contribuição de suas águas poluídas para o rio Cubatão (Lamparelli *et al.*, 2001).

Além da análise da qualidade das águas, foi desenvolvido um trabalho na região com o objetivo de analisar o sedimento do rio Cubatão, como parte do projeto de controle da poluição e recuperação ambiental. O estudo foi um dos primeiros trabalhos referentes à avaliação da poluição do rio na cidade de Cubatão, sendo, ainda, um dos primeiros trabalhos referentes à toxicidade de sedimentos no Brasil. Incluindo material proveniente da Represa Billings e do rio Cubatão, os ensaios de toxicidade permitiram identificar a liberação de nutrientes e substâncias tóxicas do sedimento para a coluna d'água em concentrações suficientes para causar efeito agudo às comunidades aquáticas desses locais (Araújo *et al.*, 2008). Também encontraram padrões parecidos ao descrito acima, os trabalhos de Zagatto *et al.* (1987) e Johnscher Fornasaro & Zagatto (1987) em estudo sobre metais e compostos orgânicos nos sedimentos do rio Cubatão.

Com o programa de controle da poluição realizado pela CETESB, em 1984, foram identificadas 320 fontes de poluição ambiental: 230 de poluição do ar, 46 de poluição do solo e 44 de poluição da água, comprovando a existência de 75 elementos

poluentes na atmosfera de Cubatão. Em 1986, após três anos do início do projeto, foi verificada uma melhora destes indicadores, quanto à poluição da água, por exemplo, das 44 fontes de poluição identificadas, 25 estavam controladas. Em 1988, o ecossistema aquático começou a mostrar sinais de recuperação, com a volta de peixes ao rio Cubatão, e foi observado que mais de 50% das fontes de poluição identificadas já estavam controladas, como mostra a tabela 2 (CETESB, 1989).

TABELA 2. Número de fontes de poluição identificadas e controladas em Cubatão (ar, solo e água), entre os anos de 1984 e 1988.

	Fontes de Poluição Identificadas (1984)	Fontes de Poluição Controladas (1988)
Ar	230	174
Água	44	33
Solo	46	42
Total	320	249

Fonte: Cetesb, 1989.

Uma das iniciativas de destaque do Programa de Recuperação da Qualidade Ambiental foi a implantação de sistemas de tratamento de efluentes nas indústrias da região, a partir de 1984, resultando na acentuada redução da carga de poluentes para o sistema hídrico. Observou-se um processo de recuperação dos ecossistemas aquáticos e estuarinos, com o aumento da diversidade de aves e organismos aquáticos (Lamparelli *et al.*, 2001). Na tabela 3, pode ser observada a redução do lançamento de poluentes industriais nos rios e estuários, ao longo de 10 anos do projeto (1984/1994).

TABELA 3. Lançamento de poluentes industriais nos rios e estuários de Cubatão, em toneladas por ano.

Poluentes	1984 (ton/ano)	1994 (ton/ano)	Redução (%)
Carga Orgânica	22.678	1.547	93
Metais Pesados	1.467	44	97
Fluoreto	1.276	100	92
Fenóis	27	6	78
Resíduos Sedimentáveis	216	22	90

Fonte: Lamparelli *et al.*, 2001.

Avaliando o ecossistema aquático da região de Cubatão, em áreas próximas ao setor industrial, observa-se que a ação das intensas descargas de efluentes industriais e domésticos ainda contribui para profundas transformações nesse ambiente (Luiz-Silva,

2002). Com base em resultados de análises químicas nos sedimentos da Bacia do Rio Cubatão, foi observada contaminação por metais pesados e benzo(a)pireno, principalmente nos locais próximos a indústria siderúrgica e ao Porto de Santos, onde foram detectados efeitos mutagênicos e toxicidade crônica para organismos aquáticos (Zagatto *et al.*, 2008).

Alguns compostos encontrados nos sedimentos da região da Baixada Santista estão acima das concentrações que podem causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos, como os metais: cádmio, chumbo, cobre, mercúrio, níquel e zinco. Outros compostos, como os HPAs, alfa, delta e gama-BHC, estão acima do limite considerado possível para provocar efeitos aos organismos. No caso dos HPAs, por exemplo, em amostras de sedimento do rio Cubatão, foram detectados valores entre 25,63 e 5028,00 g.kg⁻¹. A contaminação dos sedimentos por estes compostos é uma das principais formas de exposição da biota aquática aos poluentes podendo provocar efeitos tóxicos e/ou bioacumulação. As zonas com maior bioacumulação encontram-se na Bacia do rio Cubatão e no estuário de Santos, locais em que são observados os maiores valores de compostos tóxicos nos sedimentos, o que sugere ser este compartimento uma importante fonte de contaminação para os organismos aquáticos (Lamparelli *et al.*, 2001).

Luiz-Silva *et al.* (2006) em estudo com sedimento do sistema estuarino de Santos-Cubatão evidenciaram concentrações elevadas de metais e metalóides nos sedimentos de superfície, principalmente de mercúrio nos sedimentos do Rio Cubatão, com variação de $1,57 \pm 1,73$ ppm. A Bacia do Rio Cubatão aparece no espaço temporal como uma das áreas de maior concentração de mercúrio e outros compostos nos sedimentos, ultrapassando o padrão de referência (PEL), que é uma referência de adequação ambiental para determinados parâmetros. Este local é receptor direto dos efluentes industriais e a atividade das marés influencia na dispersão dos poluentes ao longo da bacia (Gomes *et al.*, 2009).

Dos relatórios da CETESB consta a porcentagem de resultados não conformes (NC) com os padrões de qualidade descritos na legislação com relação ao lançamento de efluentes industriais. A toxicidade em água foi um dos parâmetros avaliados, sendo utilizados os organismos *V. fischeri* e *C.dubia*. No período entre 2004 a 2008, 93% das amostras foram positivas para toxicidade crônica com *C. dubia* no Canal de Fuga II; 37% no rio Cubatão e 68% no rio Perequê. Em 2009, nota-se piora deste indicador, no ponto localizado no rio Cubatão o resultado foi de 50%, e nos pontos correspondentes ao Canal de Fuga II e ao rio Perequê, 100% das amostras estiveram fora dos padrões de qualidade para lançamento de efluentes. Em 2010, nota-se melhora nestes valores: Canal de Fuga II:

80%; Rio Cubatão: 20%; Rio Perequê: 20%. Em 2011, para o Canal de Fuga II houve uma queda na porcentagem de resultados não conformes, chegando a 25% (menor média desde 2004), porém para o rio Perequê esta porcentagem subiu passando de 20% (2010) para 50%.

Quanto ao monitoramento da qualidade das águas, segundo CETESB (2011), nota-se melhora em alguns indicadores de qualidade desde 2002. Na tabela a seguir (tabela 4) constam os dados de Índices de Qualidade das Águas (IQA – Índice de Qualidade de Água; IAP – Índice de Qualidade de Água para fins de Abastecimento Público; IVA – Índice de Qualidade de Água para Proteção da Vida Aquática), no período entre 2002 e 2011. Os pontos monitorados pela CETESB foram denominados de: CFUG 02900 (Canal de Fuga II da Usina Henry Borden), CUBA 02700 (Rio Cubatão), CUBA 03900 (Rio Cubatão), e PERE 02900 (Rio Perequê).

TABELA 4. Média anual dos Índices de Qualidade da Água (Relatórios de Águas Interiores da CETESB, 2002-2011).

Locais amostrados	Índices	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Canal de Fuga II	IQA	80	76	80	68	77	70	73	78	72	76
	IAP	-	64	67	60	45	29	42	28	38	49
	IVA	3,7	5,4	4,8	6,7	6,7	5,6	6,1	8,2	6,0	4,5
Rio Cubatão (02700)	IQA	65	64	69	52	65	62	65	63	62	65
	IAP	51	77	51	57	39	43	52	63	62	50
	IVA	3,8	3,9	3,7	4,4	3,0	3,1	2,6	5,0	2,9	1,8
Rio Cubatão (03900)	IQA	55	49	58	55	56	59	56	58	58	58
	IAP	43	-	57	54	54	59	-	-	-	-
	IVA	6,1	5,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Perequê	IQA	-	-	58	67	67	65	62	69	62	71
	IAP	-	-	-	65	55	67	-	-	-	-
	IVA	-	-	-	4,6	3,8	3,1	3,3	-	3,2	2,3

Legenda:

Ótima Boa Regular Ruim Péssima

- : não realizado

Do monitoramento ambiental que vêm sendo realizado observa-se melhora em alguns indicadores, mas ainda existem fontes de poluição que contribuem para degradação ambiental, sendo que o rio Cubatão ainda recebe descargas de efluentes domésticos e industriais, e muitos compostos depositaram-se nos sedimentos dos rios, sendo este

compartimento potencial fonte de contaminação para a biota aquática do local. Desta forma, estudos que visem o monitoramento do corpo hídrico são de suma importância para evidenciar os efeitos negativos bem como os positivos e neste aspecto, os ensaios ecotoxicológicos podem contribuir para uma avaliação da contaminação da água e sedimento dos rios de Cubatão.

3.3. Ecotoxicologia

No Brasil, a resolução CONAMA 357/05 recomenda o controle ecotoxicológico para efluentes e define os ensaios ecotoxicológicos como ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos. Os testes de toxicidade avaliam o grau de sensibilidade de espécies de animais e plantas a uma substância tóxica, um efluente ou uma amostra ambiental suspeita de contaminação, além de outras aplicações.

Os efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos podem ser quantificados por uma variedade de critérios, como mortalidade, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, número de anomalias ou incidência de tumores, alterações fisiológicas, densidade e diversidade de espécies numa determinada comunidade biológica, entre outros (Zagatto & Bertolotti, 2008).

A avaliação do impacto do lançamento de efluentes em corpos hídricos pode ser realizada com organismos representativos da coluna d'água ou dos sedimentos de ambientes de água doce, estuarinos ou marinho. Recomenda-se a utilização de organismos representativos de diferentes níveis tróficos, pois diferentes gêneros de organismos possuem maior sensibilidade a grupos de contaminantes específicos (Borrely, 2001; Zagatto, 2008).

Além dos ensaios para efeitos agudos, os de efeitos crônicos complementam a avaliação ou monitoramento ambiental do ponto de vista biológico, pois muitas vezes os efeitos observados são subletais, em que as concentrações do agente tóxico podem afetar uma ou várias funções biológicas, como por exemplo, reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento; porém não leva à morte o organismo (Magalhães & Ferrão Filho, 2008).

O resultado de um ensaio de toxicidade para efeito agudo pode ser expresso pela CL50 ou pela CE50. A CL50 avalia a mortalidade dos organismos, sendo a concentração letal mediana em 50% dos organismos expostos a amostra. Já a CE50 é a

concentração efetiva mediana que causa efeito agudo a 50% dos organismos expostos, sendo o efeito observado a imobilidade dos organismos expostos. No caso dos ensaios de toxicidade crônica, os resultados podem ser expressos pela CENO e a CEO, que representam, respectivamente, a Concentração de Efeito Não Observado e a Concentração de Efeito Observado (Zagatto, 2008).

3.3.1. Ensaios de toxicidade: organismos teste

Neste estudo, os organismos empregados nos ensaios de toxicidade visando a avaliação de efeitos agudos e crônicos foram: *Vibrio fischeri*, *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca*.

Na determinação da toxicidade aguda em águas, um ensaio bastante difundido emprega a bactéria marinha luminescente *Vibrio fischeri*. O ensaio com a bactéria apresenta vantagens como sensibilidade, rapidez, simplicidade e custo relativamente baixo, quando comparado com o custo de análises químicas. Este ensaio, pela rápida obtenção de resultados, vem sendo utilizado em correlação com bioensaios com vertebrados e peixes (Mozeto *et al.*, 2006).

O ensaio analisa a redução da quantidade de luz emitida pelo microrganismo-teste, após sua exposição a um composto químico ou a uma amostra ambiental suspeita de contaminação. As medidas da quantidade de luz emitida pelas suspensões bacterianas antes e após o contato com a amostra, em intervalos de tempo padronizados, mostram claramente a redução da capacidade de produção da luz pela bactéria ao entrar em contato com substâncias tóxicas ou amostras ambientais contaminadas (Borrely, 2001).

Quanto a análise de efeitos crônicos, um dos ensaios de toxicidade mais utilizados emprega o gênero *Ceriodaphnia*, tanto para amostras de substâncias químicas quanto para amostras ambientais. Neste caso além da sobrevivência, avalia-se a reprodução dos organismos expostos a amostra ao longo do ensaio. A taxa de reprodução (neonatos nascidos) dos organismos expostos é comparada com a taxa de reprodução do grupo controle (ABNT, 2005).

Quanto à avaliação do sedimento, o anfípodo *Hyalella azteca* vêm sendo amplamente utilizado, por ser um organismo que vive em contato com este compartimento. Desde 2000, a CETESB emprega o organismo no monitoramento de sedimentos dos principais reservatórios do Estado de São Paulo, identificando locais em que podem estar ocorrendo efeitos severos para a biota aquática.

Dentre os estudos em alguns reservatórios do Estado de São Paulo foram determinadas toxicidade aguda para *H. azteca* em amostra com altos índices de metais pesados (Cromo, Cobre, Chumbo e Zinco) no rio Atibainha. No rio Tietê e no reservatório Billings, *H. azteca* apresentou porcentagem de sobrevivência inferior a 50% após exposição às amostras contaminadas com Chumbo, Cobre, Mercúrio e Zinco, (Araújo, 1998).

O ensaio de toxicidade aguda em sedimento integral com *H. azteca* consiste na exposição deste organismo ao sedimento por um período de dez dias, a fim de avaliar a sobrevivência e/ou o crescimento dos organismos expostos a amostra (USEPA, 2000; ABNT, 2007). De acordo com Araújo (2005) a *Hyalella azteca* é um organismo que pode ser utilizado para se avaliar a toxicidade de sedimento de água doce no Brasil, pois apresenta sensibilidade a diferentes contaminantes e boa reprodutibilidade, sendo fácil de ser cultivado em condições de laboratório. No estudo, sedimentos dos reservatórios de Rasgão, Barra Bonita e rio Sorocaba, por exemplo, apresentaram qualidade péssima e ruim, o que pode estar relacionado ao excesso de carga orgânica nas amostras e também à presença de metais, como cobre e zinco, no sedimento. Nestas amostras o organismo *H. azteca* apresentou mortalidade superior a 50%.

Burton (1991) destaca que esse organismo tem tolerância adequada a diferentes tipos de sedimento e apresenta maior sensibilidade quando comparado a outros organismos, podendo ser empregados em testes de toxicidade de sedimento de água doce ou marinho. Abessa *et al.* (2006) destacam a utilização da *H. azteca* para ensaios de toxicidade com sedimentos marinhos e estuarinos. Além da *H. azteca*, organismos como *Chironomus xanthus* e *Ceriodaphnia dubia* também vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade dos sedimentos.

3.4. Avaliação da qualidade dos sedimentos

A avaliação da qualidade da água de mananciais tem sofrido ao longo dos últimos anos mudanças do ponto de vista da concepção de programas de monitoração em diversos países. Essas mudanças envolvem uma nova abordagem que inclui a qualidade de sedimentos. Esse compartimento deixou de ser considerado apenas como um ambiente de (geo) acumulação de nutrientes, mas também de trocas e/ou interações com a coluna d'água e com a biota residente. Os sedimentos têm sido considerados e demonstrados como fonte de nutrientes e contaminantes, devido as suas características físicas,

composição química e propriedades biogeoquímicas de diferentes sedimentos existentes nos ecossistemas aquáticos (Mozeto *et al.*, 2006).

O sedimento é resultante de processos físicos, químicos e biológicos envolvidos nos ecossistemas aquáticos, influenciando no metabolismo de todo o sistema (Esteves, 1988), sendo composto por água intersticial, fragmentos de rochas e minerais, matéria orgânica proveniente da biota e compostos de origem antropogênica (Power & Chapman, 1992).

O sedimento é um dos compartimentos mais importantes no estudo da avaliação da contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente por acumular compostos orgânicos e inorgânicos que podem ser fonte de contaminação para os organismos bentônicos, por exposição direta, e também para os organismos pelágicos, pela ressuspensão dos contaminantes, provocadas por ações biológicas, tempestades, dragagens, via alimentar ou pela troca que existe entre a água intersticial e a água sobrejacente aos sedimentos (Power & Chapman, 1992; Zamboni, 1993).

A maioria dos compostos químicos de origem antropogênica, como pesticidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e hidrocarbonetos clorados, tendem a ficar adsorvidos no sedimento. As atividades portuárias são destaque na contaminação destes, pela constante descarga de poluentes no corpo hídrico (Ingersoll, 1995).

Como consequência, a comunidade bentônica pode ser totalmente perdida ou convertida a espécies tolerantes a poluição. Esta tolerância pode desenvolver uma diversidade de materiais e produtos metabólicos diferentes. Essas diferenças significam que as funções dos ecossistemas, tais como fluxo de energia, produtividade e processos de decomposição podem ser significativamente alteradas (Griffiths, 1983).

Poluentes como metais pesados e compostos organoclorados podem permanecer no ambiente em associação ao sedimento em concentrações superiores às da água, devido a estes compostos, já foi evidenciada ação mutagênica em sedimentos no estado de São Paulo (Boldrini *et al.*, 1990; Rocha *et al.*, 2009). Outra alteração importante, devido a estes compostos, ocorre no ciclo do nitrogênio, que pode levar a mortalidade de fitoplancton e dar origem ao florescimento das cianobactérias (algas azuis) que podem produzir neuro e hepatotoxinas que afetem o metabolismo dos organismos aquáticos (Burton & MacPherson, 1995).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente publicou, em 2004, a resolução CONAMA 344, e a Secretaria do Meio Ambiente a Resolução SMA 39, ambas dispõem sobre a classificação e disposição do material a ser dragado no país, bem como

critérios de qualidade dos sedimentos, assim como seguem as diretrizes propostas pelo Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente (CCME, 2002). Os valores estabelecidos pela resolução CONAMA 344 são baseados em concentrações totais e na probabilidade de ocorrência de efeito sobre a biota.

Quanto à concentração de contaminantes, estes podem ser classificados em faixas de acordo com os valores de TEL (Threshold Effect Level) e PEL (Probable Effect Level). O menor limite: TEL ou nível 1, representa a concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos. O maior limite: PEL ou nível 2, representa a concentração acima da qual são frequentemente esperados efeitos adversos para os organismos, assim a classificação do contaminante quanto à qualidade seria considerada ruim ou péssima. Na faixa entre TEL (nível 1) e PEL (nível 2) situam-se os valores onde ocasionalmente esperam-se efeitos para a biota, estando a qualidade do contaminante entre boa e regular (CONAMA 344, 2004; CETESB, 2011). Esta classificação de acordo com TEL e PEL é uma referência de adequação ambiental para determinados parâmetros, sendo importante na avaliação da qualidade de sedimentos. Na figura 4 esta apresentada a classificação dos contaminantes em faixas de qualidade segundo os critérios da CETESB.

FIGURA 4. Classificação de contaminantes químicos em cinco faixas de qualidade e sua relação com os critérios TEL e PEL. Fonte: Cetesb, 2011.

Para uma avaliação completa da qualidade de sedimentos, além da classificação dos contaminantes químicos de acordo com os critérios de TEL e PEL, recomenda-se a utilização de ensaios ecotoxicológicos com o organismo *Hyaella azteca*, em que os sedimentos são avaliados em quatro classes de qualidade de acordo com os tipos e intensidades de efeitos observados aos organismos expostos. Quanto a efeitos mutagênicos, ocorrem cinco classes. Além disso, a fim de se avaliar a qualidade do sedimento pelo componente biótico, a CETESB utiliza a estrutura da comunidade bentônica, em que se aplicam índices multimétricos desenvolvidos para rios e reservatórios. Neste caso, os sedimentos são avaliados quanto a sua qualidade em até cinco classes (CETESB, 2011). Na figura 5, estão representados os elementos que

compõem a caracterização do Critério de Avaliação da Qualidade dos Sedimentos (substâncias químicas, toxicidade e comunidade bentônica).

Segundo Burton & MacPherson (1995) em áreas que recebem cargas importantes de poluentes, muitas vezes os efeitos são dificilmente observados. Deste modo, a análise destes locais requer o uso de uma variedade de ferramentas de avaliação, com a análise da comunidade bentônica, análises químicas, quantificação das características do habitat e ensaios de toxicidade.

FIGURA 5. Elementos que compõem a caracterização do Critério de Avaliação da Qualidade dos Sedimentos. Fonte: Cetesb, 2011.

Outro parâmetro biológico possível é a análise de crescimento corpóreo dos organismos expostos aos sedimentos, uma vez que, alguns compostos não causam mortalidade e nem alteram a reprodução, porém podem afetar o metabolismo dos

organismos, ocorrendo efeitos no crescimento destes. A análise do crescimento corpóreo pode ser expressa por porcentagem de redução do peso seco ou por determinação da medida corpórea dos organismos. Pode ocorrer a inibição da alimentação na presença de determinados contaminantes (Koobs et al, 2003) mesmo em locais com ampla disponibilidade de matéria orgânica.

A norma técnica da USEPA (2000) estipula que a análise do crescimento corpóreo através de medição deve ser realizada da base da primeira antena até o topo do terceiro urópode, ao longo da curva da superfície dorsal do organismo. Já a análise de crescimento pelo peso seco pode ser realizada a partir da secagem e pesagem dos organismos sobreviventes à exposição.

Ingersoll & Nelson (1990) encontraram toxicidade aguda para *H. azteca* exposta ao sedimento do porto Waukegan (Estados Unidos), porém a análise de crescimento corpóreo não evidenciou efeitos no crescimento dos organismos expostos: sobrevivência de 90% dos organismos expostos ao sedimento, a média de crescimento foi de 3,1 mm; e na sobrevivência de 60%, a média de crescimento foi de 2,9 mm. Segundo os autores, o efeito não observado no crescimento pode estar associado à água utilizada no teste, pois o aumento de dureza ou alcalinidade pode reduzir a toxicidade de muitos contaminantes orgânicos e inorgânicos, além disso, a diferença na idade dos animais no início da exposição pode ser fator que contribui para o efeito não observado.

Kemble *et al.* (1994) em estudo no reservatório de Milltown e no rio Clark Fork (Estados Unidos), utilizando *Hyalella azteca*, observaram ausência de toxicidade crônica para os organismos expostos ao sedimento, porém foi observada uma redução no crescimento, fato que pode estar associado, segundo os autores, a elevada concentração de metais nos sedimentos. Foram encontrados elementos como Arsênio, Cobre, Cádmio, Chumbo, Manganês e Zinco nas amostras de sedimento. Conforme dados: sobrevivência de 99%, média de crescimento de 4,1 mm; sobrevivência de 78%, média de crescimento de 2,62 mm.

Araújo (2005) em estudo em diversos reservatórios do Estado de São Paulo, analisando a porcentagem de redução do peso seco com o organismo *Hyalella azteca*, encontrou efeitos significativos em pontos nos rios: Atibainha, Atibaia e Sorocaba. Em relação à toxicidade aguda em sedimento, só foi verificada toxicidade para os organismos expostos as amostras do rio Sorocaba, evidenciando, assim, a importância de um estudo complementar a avaliação de toxicidade aguda/ crônica em sedimento.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Diante da preocupação ambiental com a região da Baixada Santista, este estudo visou à análise de água e sedimento do rio Cubatão e dois de seus afluentes (Rios Perequê e Pilões) através de ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos, por um período de dois anos. A amostragem foi realizada pela equipe do Laboratório de Ensaios Biológicos Ambientais do Centro de Tecnologia das Radiações do IPEN.

4.1. Locais de amostragem e procedimentos com as amostras ambientais

A seleção e identificação dos locais amostrados foram conduzidas com auxílio de sistema GPS (Global Positioning System), sendo escolhidos locais mais preservados e locais sob influência de atividade industrial. Os períodos de amostragem foram: março e agosto de 2010 e fevereiro e junho de 2011, incluindo períodos de maiores índices pluviométricos (março de 2010 e fevereiro de 2011) e dois períodos mais secos (agosto de 2010 e junho de 2011).

No presente trabalho, foram analisados nove locais na Bacia do Rio Cubatão, sete destes no Rio Cubatão e dois em seus afluentes (Perequê e Pilões). Na primeira campanha foram realizadas as coletas de água e sedimento em três pontos no rio Cubatão (P0, P2 e P5), momento da execução do projeto; à partir da segunda campanha foram incluídos os outros pontos no Rio Cubatão, além dos pontos nos rios Perequê e Pilões. A coleta de sedimento só foi possível em seis pontos (P0, P2, P4, P5, PE e PI), pois P1 e P3 por serem canais de fuga possuem fundo apenas com pedras e em P6 a presença de sedimento não foi significativa para possível coleta.

Na tabela 5 estão apresentadas as referências geográficas de todos os locais envolvidos na amostragem, enquanto na figura 6 está apresentado o mapa da região.

TABELA 5. Descrição e referenciais dos locais de amostragem.

Pontos	Latitude	Longitude	Descrição do local de amostragem
0	S23°54'53,3"	WO 46°29'43,8"	Ponte suspensa sobre o rio Cubatão – Estr. Caminhos dos Pilões, limites do Pq Ecológico Itutinga Pilões.
1	S23°52'46,9"	WO 46°26'48,6"	Ponte - Canal de Fuga II da Usina Hidroelétrica Henry Borden.
2	S23°52'50,3"	WO 46°26'48,1"	Ponte de Ferro, próxima a ETA Cubatão.
3	S23°52'47,2"	WO 46°26'54,5"	Ponte - Canal de Fuga I da Usina Hidroelétrica Henry Borden (EMAE).
4	S23°52'45,8"	WO 46°25'19,2"	Ponte Rio Cubatão - Centro do município, próximo ao Hospital Ana Costa e a jusante da CBE – Cia Bras. de Estireno.
5	S23°52'39,5"	WO 46°24'43,1"	Rio Cubatão em frente da salina da Carbocloro S.A. Ind. Quím.
6	S23°52'49,4"	WO 46°25'36,7"	Pte Rod. Cônego Domenico Rongoni, km 265, jusante RBPC – Ref. Pres. Rodrigues Bernardes e a Fosfertil - Fertilizantes Fosfatados S.A.
PI	S23°54'27,1"	WO 46°29'31,6"	Ponto no Rio Pilões - Parque Itutinga Pilões.
PE	S23°52'00,7"	WO 46°25'05,8"	Ponto no Rio Perequê – a jusante do Pq Ecológico Perequê.

Legenda: ETA - Estação de Tratamento de Água; EMAE - Empresa Metropolitana de Águas e Energia S.A.

A Figura 6 permite observar a ocupação do solo na região em estudo, que abrange tanto a atividade industrial como a elevada concentração de moradias, área compreendida pelos pontos P1 a P6, principalmente, enquanto os denominados como P0 e PI representam local sob menor influência dessas atividades, seguido de PE.

FIGURA 6. Fotografia com indicação dos pontos amostrados no Rio Cubatão (P0, P1, P2, P3, P4, P5 e P6), Rio Perequê (PE) e Rio Pilões (PI).

A seguir, estão apresentadas as fotografias dos locais em que foram realizadas as coletas de água e sedimento neste estudo (Figuras 7 à 15).

FIGURA 7. Rio Cubatão, próximo aos limites do Parque Ecológico Itutinga Pilões (P0).

FIGURA 8. Canal de Fuga II da Usina Hidroelétrica Henry Borden (P1).

FIGURA 9. Rio Cubatão, próximo a ETA Cubatão (P2).

FIGURA 10. Canal de Fuga I da Usina Hidroelétrica Henry Borden (P3).

FIGURA 11. Rio Cubatão, próximo ao hospital Ana Costa, a jusante da CBE (P4).

FIGURA 12. Rio Cubatão, próximo a salina da Carbocloro S.A. Ind. Quim. (P5).

FIGURA 13. Rio Cubatão, a jusante da RBPC e da Fوسفertil (P6).

FIGURA 14. Rio Perequê, a jusante do Parque Ecológico do Perequê (PE).

FIGURA 15. Rio Pilões, Parque Itutinga Pilões (PI).

As amostras de sedimento foram coletadas com auxílio do equipamento “van Veen” e acondicionadas em sacos plásticos, sendo armazenadas em refrigerador até a realização dos ensaios de toxicidade.

As amostras de água foram armazenadas em frascos de polietileno, preenchidos totalmente para evitar a presença de ar durante o transporte. As amostras submetidas ao congelamento tiveram uma fração descartada a fim de evitar um possível vazamento e deformação do frasco de coleta com perda de amostra.

Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados por ocasião das coletas e da montagem dos ensaios ecotoxicológicos (condutividade, OD - Oxigênio Dissolvido, pH, salinidade e dureza). Essas determinações foram realizadas com aparelhos específicos: HD 40d (OD e condutividade), Micronal B474 (pH), Refratômetro Quimis Q-767-3 (salinidade). E a dureza por titulação volumétrica.

4.2. Manutenção dos organismos-teste em laboratório

Todos os ensaios realizados em laboratório bem como o cultivo dos organismos seguiram as recomendações e metodologias propostas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT-NBR). Os cultivos dos organismos e os ensaios com as amostras ambientais foram realizados no Laboratório de Ensaio Biológicos Ambientais do Centro de Tecnologia das Radiações (LEBA-CTR).

Os organismos-teste empregados neste trabalho foram: *Vibrio fischeri*, *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca*.

4.2.1. Água de diluição e de cultivo

A água utilizada para o cultivo dos organismos em laboratório e para a realização da diluição das amostras foi coletada no reservatório de Ribeirão do Piraí, Bacia do Rio Jundiaí, localizado no município de Salto/SP, Brasil (Figura 16). As coletas da água de cultivo foram bimestrais.

FIGURA 16. Fotografia do Ribeirão do Piraí- Salto/SP.

A água coletada foi acondicionada em bombonas de polietileno de 20L e estocada em laboratório. Inicialmente foram analisados os parâmetros físico-químicos da água coletada: oxigênio dissolvido (O.D.), condutividade, pH e dureza. O ajuste da dureza da água para 44 a 46 $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ foi realizado, pois esta dureza é ideal para a manutenção dos organismos. Geralmente, a água coletada possuía dureza próxima de 20 $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, por isso a necessidade da correção, que foi ajustada pela adição de sais (Sulfato de cálcio e magnésio, cloreto de potássio e bicarbonato de sódio) e mensurada por titulação volumétrica. Após este procedimento, a água foi mantida sob aeração constante, para

manutenção dos níveis de oxigênio e solubilização dos sais utilizados para a correção. Em seguida foram realizados os ensaios de viabilidade da água com todos os organismos nela mantidos, previamente à utilização nos cultivos e ensaios de toxicidade. A cada novo lote de água coletada, ensaios de viabilidade foram realizados após correção da dureza da água.

4.2.2. Cultivo de *Ceriodaphnia dubia*

Os organismos foram cultivados em cristalizadores de 1 litro, acondicionados em incubadora com temperatura de 25°C (± 2) e fotoperíodo (16h claro). Após a adição da água de cultivo, foram adicionados 30 a 40 organismos jovens em cada cuba. Geralmente, eram mantidos de 3 a 4 cristalizadores no laboratório para o cultivo de *C. dubia*. Diariamente, os neonatos foram retirados das cubas, com auxílio de pipeta Pasteur, e os adultos alimentados com a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* e o complemento RL (ração de peixe hidratada com leveduras), além disso, a limpeza das cubas tirando as carapaças dos organismos também foi realizada. Estes neonatos retirados foram mantidos em béqueres para posterior uso nos ensaios, e preparo de novos cultivos ou foram descartados em recipientes apropriados.

A cada semana foi realizada a troca total da água dos cristalizadores, e os organismos adultos foram transferidos para cristalizadores com a nova água. Após, o período de aproximadamente vinte dias, ou quando o cultivo apresentava algum problema, os organismos eram descartados e iniciava-se um novo cultivo.

4.2.3. Cultivo do anfípoda *Hyaella azteca*

A manutenção dos cultivos de *Hyaella azteca* foi realizada semanalmente, geralmente as terças-feiras, por ocasião das montagens dos ensaios com sedimento integral. Na maioria das vezes, foram utilizados cristalizadores que comportavam aproximadamente 3 litros de água. Nestes, além da água de cultivo foram adicionadas malhas de nylon, que funcionavam como substrato artificial. A água utilizada para o cultivo foi ajustada para pH próximo de 7,0 e dureza entre 44 a 46 mgCaCO₃.L⁻¹, seguindo recomendações da ABNT (ABNT NBR – 15470).

Normalmente foram mantidos de 3 a 4 cristalizadores para o cultivo de *H. azteca*, com 150 organismos em cada, aproximadamente (Figura 17). Estes foram acondicionados em incubadora com temperatura de 25°C (± 2) e fotoperíodo (16h claro).

A renovação da água do cultivo total ou parcial foi realizada semanalmente, todos os organismos jovens retirados do cristalizador foram transferidos para béqueres com água de cultivo e malha de nylon e os adultos transferidos para cristalizadores com a nova água (troca total). Para a retirada dos organismos, 2/3 da água da cuba foram retirados por sifonamento, com auxílio de mangueira de silicone protegida com malha de nylon, a fim de evitar a perda de organismos. Em todas as manutenções foram contados os números de jovens nascidos por cristalizador e o número de adultos, a fim de manter um controle sobre a viabilidade do cultivo.

Os organismos adultos foram alimentados duas vezes na semana, no dia da manutenção e depois de transcorridas 72 horas. O alimento oferecido foi ração de peixe. Os organismos jovens, retirados das cubas de vidro e colocados em béqueres, foram alimentados com RL, no dia da manutenção.

FIGURA 17. Cristalizador contendo cerca de 150 *H. azteca*.

4.2.4. *Vibrio fischeri*

A bactéria marinha *Vibrio fischeri* foi adquirida através de compra em laboratório especializado e mantida em estado liofilizado, em freezer com temperatura abaixo de 80 °C, até o momento dos ensaios.

4.3. Ensaios de toxicidade

Os ensaios de toxicidade para o estudo compreenderam efeitos agudos com a bactéria *Vibrio fischeri* e crônicos com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, realizados em amostras de água procedentes do sistema em estudo. A avaliação do sedimento integral

foi realizada por ensaios de toxicidade aguda com *Hyaella azteca*. Além disso, o crescimento corpóreo destes últimos quando expostos ao sedimento também foi determinada, a partir da segunda campanha (agosto/ 2010).

4.3.1. Ensaio de toxicidade aguda em água – *Vibrio fischeri*

O ensaio de toxicidade aguda foi realizado com a bactéria marinha luminescente *Vibrio Fischeri* (Figura 18 a), seguindo o método NBR 15411-2: 2006, partindo de bactérias liofilizadas. O ensaio foi realizado com o sistema Microtox®, modelo M-500 da Microbics (Figura 18 b).

Inicialmente foi realizada a primeira série de leituras iniciais (I_0), e após 15 minutos de exposição da bactéria a amostra, foi realizada uma segunda série de leituras a fim de avaliar se houve perda de luminescência, em cada concentração-teste. O resultado do teste foi expresso pela CE50, que significa a concentração mediana de efeito obtido durante a exposição. As concentrações utilizadas nos ensaios foram 20,7%, 31,6%, 46,6% e 70%, com ajuste osmótico com solução salina (NaCl 20%), por se tratar de uma bactéria marinha. Para a validação dos ensaios realizados com as amostras de água, foi avaliada a sensibilidade dos organismos-teste utilizando o fenol como substância referência, os resultados obtidos foram utilizados na carta controle de sensibilidade, segundo recomendações da Norma Técnica.

A análise estatística empregada para calcular os valores da CE50 foi baseada no valor do efeito gama (γ), que é o quociente entre a luz emitida e a luz remanescente. E a respectiva concentração da amostra determinada com a Versão 7.82 do programa desenvolvido pela Microbics Corp, também possível de ser obtida para curva de regressão linear.

FIGURA 18. a: Bactéria luminescente *Vibrio fischeri*; **b:** Sistema Microtox®.

4.3.2. Ensaio de toxicidade crônica em água – *Ceriodaphnia dubia*

O ensaio de toxicidade crônica foi realizado de acordo com a NBR: 13373:2005, espécie *Ceriodaphnia dubia*, sendo um teste semi-estático, com troca de soluções durante o ensaio (renovação de amostra). Na figura 19 é possível observar um organismo adulto de *C. dubia* com ovos no dorso.

FIGURA 19. Fotografia do organismo *C. dubia*.
Fonte: Romanelli, M.F. (LEBA, 2004).

As amostras de água foram previamente descongeladas e mantidas em temperatura de 25°C (± 2), para o início do ensaio. Dez réplicas de cada amostra foram empregadas nesses ensaios, sendo adicionados 20 mL de amostra em cada réplica e um organismo neonato por réplica, totalizando 10 organismos expostos para cada amostra (Figura 20).

FIGURA 20. Montagem do ensaio com *C. dubia*.

O ensaio teve duração de 7 à 8 dias até atingir três crias, os organismos foram alimentados diariamente com alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (100µL) e nas trocas de solução também com (100µL) de RL (ração de peixe hidratada e leveduras) (ABNT, 2005). A troca da solução foi realizada a cada dois dias, sendo que a cada troca e no fim do ensaio, foi realizada a contagem do número de neonatos nascidos em cada réplica. O número de neonatos obtidos em cada ponto foi comparado ao número obtido no controle. A validação do ensaio seguiu recomendação da Norma Técnica, em que o número médio de neonatos do controle deve ser igual ou superior a 15.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa TOXSTAT, Versão 3.5 (Gulley, 1996), sendo utilizado o teste “t” por bioequivalência. O “teste de hipóteses por bioequivalência” foi proposto para reduzir a incidência de falsos positivos (efeitos significativos estatisticamente, mas que não são importantes sob o aspecto biológico) e de falsos negativos (efeitos que não são detectados), podendo ser aplicado em dados normais e com variâncias homogêneas (Buratini & Bertoletti, 2008).

A constante de bioequivalência (B) calculada por Bertoletti *et al.* (2007) para *Ceriodaphnia dubia* (B=0,79) foi utilizada nos cálculos. À partir dos dados da análise estatística, as amostras foram classificadas como “tóxicas” ou “não tóxicas” em relação ao controle.

Utilizando um nível de efeito biologicamente relevante, incorporado ao cálculo por meio da constante de proporcionalidade ou bioequivalência (B), este método permite detectar se as médias obtidas no controle e no grupo experimental diferem de modo significativo sob os pontos de vista estatístico e biológico (Buratini & Bertoletti, 2008).

Ainda para a validação dos ensaios com as amostras ambientais, bem como para avaliar a reprodutibilidade dos resultados, mensalmente a sensibilidade dos organismos foi avaliada utilizando o cloreto de potássio (KCl) como substância referência, seguindo a norma NBR 13373 (2005). Foi montado um controle com água de cultivo e quatro concentrações: 75, 125, 250 e 300 mg/L. O mesmo procedimento descrito no ensaio crônico para as amostras ambientais com *C. dubia* foi utilizado no ensaio de sensibilidade. A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações de letalidade por interpolação linear e os resultados foram utilizados para a carta controle de sensibilidade do organismo ao KCl.

4.3.3. Ensaio de toxicidade aguda em sedimento integral – *Hyalella azteca*

O ensaio de toxicidade aguda com sedimento integral utilizando o anfípoda *Hyalella azteca* foi desenvolvido de acordo com a NBR 15470:2007, sendo um teste semi-estático, com troca de solução durante o ensaio (renovação) e duração de 10 dias, a fotografia de *H. azteca* corresponde à figura 21.

FIGURA 21. Fotografia do organismo *H. azteca*.

Para a realização dos ensaios foram utilizados recipientes plásticos de 500mL, em que foram acondicionados 100mL de sedimento bruto, seguido de adição de 200 mL de água de diluição (utilizada no cultivo dos organismos), evitando a ressuspensão do sedimento, e respeitando a proporção 1:2. Em seguida, os recipientes foram mantidos em repouso por um período de 12 horas, para posterior adição dos organismos (Figura 22).

FIGURA 22. Montagem do ensaio com sedimento integral para exposição de *H. azteca*.

Com os sedimentos de cada ponto estudado foram montadas quatro réplicas, com 10 organismos jovens em cada, com idade entre 7 e 14 dias, totalizando 40 organismos para cada amostra. Juntamente foram montados 4 controles com 10 organismos jovens em cada réplica. Este controle foi realizado com água de diluição e uma malha de “nylon” como substrato artificial para os organismos.

Os organismos foram mantidos em temperatura de 25°C (± 2), com fotoperíodo de 16 horas. A duração do ensaio foi de 10 dias, os organismos foram alimentados diariamente com 1000 μ L de RL, bem como nas renovações de água com 1500 μ L. A cada 2 dias foi realizada renovação de 2/3 da água, sendo a água retirada por sifonamento com auxílio de mangueira de silicone com malha de “nylon” na ponta para evitar a perda de organismos. Após cada troca, foram analisados os parâmetros físicos químicos (oxigênio dissolvido, pH e condutividade) da água retirada do ensaio.

Ao final do ensaio foi realizada a contagem dos organismos vivos em cada réplica, quando não encontrados todos os organismos, foi realizado o peneiramento do sedimento do recipiente, a fim de encontrar mais algum sobrevivente (Figura 23). Os organismos não encontrados, após o peneiramento, foram considerados mortos. A sobrevivência dos organismos expostos a cada uma das amostras foi comparada com a do controle.

FIGURA 23. Peneiramento do sedimento.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa TOXSTAT, Versão 3.5 (Gulley, 1996), sendo utilizado o teste “t” por bioequivalência. A constante de bioequivalência (B) calculada por Bertoletti *et al.* (2007) para *Hyaella azteca* (B=0,89) foi utilizada nos cálculos. Com os dados da análise estatística, as amostras foram classificadas como “tóxicas” ou “não tóxicas” em relação ao controle, realizado com a água utilizada no laboratório para cultivos dos organismos.

Para a validação dos testes, mensalmente a sensibilidade dos organismos foi avaliada utilizando como substância referência o cloreto de potássio (KCl), seguindo a norma NBR 15470:2007. Foi montado um controle com água de cultivo e seis concentrações: 140, 175, 220, 270 e 340 mg.L⁻¹. Para cada concentração, 10 recipientes foram utilizados com 20mL da solução em cada, sendo colocado um organismo jovem por recipiente e um substrato artificial (malha de “nylon”). O alimento (RL) foi oferecido no início do teste e depois de 48 horas. O ensaio teve duração de 96 horas, e ao seu término foram contados os organismos sobreviventes.

A análise estatística foi realizada através do programa Trimmed Spearman Karber, as concentrações de efeito foram calculadas e os dados obtidos foram utilizados na composição carta-controle de sensibilidade do organismo.

4.3.4. Análise de Crescimento Corpóreo – *Hyaella azteca*

Além da mortalidade, foi avaliado o crescimento corpóreo dos indivíduos expostos ao sedimento, a fim de observar se a exposição destes ao sedimento integral afetou o desenvolvimento dos organismos. A biometria foi realizada de acordo com as diretrizes propostas pela Norma da USEPA (2000).

Após a leitura do ensaio de toxicidade aguda, os organismos sobreviventes de cada réplica foram retirados da solução teste e colocados em tubos plásticos, sendo preservados em solução aquosa contendo 70% de álcool, até a realização da biometria e a análise da imagem.

Para a avaliação do crescimento, o comprimento do anfípodo foi medido à partir da base do 3º urópode (apêndice do último segmento abdominal) até a base da 1ª antena ao longo da superfície dorsal do organismo, e o comprimento medido em μm .

Para otimizar e garantir maior precisão na medição dos comprimentos, previamente as análises, foi realizada a determinação do comprimento de uma série de organismos, sendo cada um medido dez vezes; um exemplo da medição de um organismo, com o intervalo e desvio padrão: 2.594,99 - 2.793,82 μm , $dv=73,19 \mu\text{m}$.

Na figura 24 está apresentado o modelo da USEPA (2000) recomendado para a análise do crescimento corpóreo, enquanto na figura 25 estão apresentados dois exemplos de organismos analisados neste estudo. As análises foram feitas com lupa (modelo: Leica S8APO) acoplada à câmera digital (modelo: Leica DFC280), computador para visualização das imagens e software específico (IM 50) para análise das mesmas. As análises foram realizadas no Laboratório de Malacologia e Parasitologia do Instituto Butantan, sendo analisadas, aproximadamente, 1000 imagens durante o trabalho.

FIGURA 24. *Hyalella azteca*. (A) urópodes; (B) base da 1ª antena; (C) gnatópode- usado para segurar as fêmeas. As fêmeas são reconhecidas pela presença de ovos ou ausência de gnatópode alargado. (USEPA, 2000).

FIGURA 25. *Hyalella azteca*. Com marcação do comprimento do organismo em μm da base do 3º urópode até a base da 1ª antena.

4.4. Determinações de Contaminantes no sedimento

A determinação de contaminantes presentes nas amostras de sedimento foi realizada por meio de Análise por Ativação Neutrônica (NAA) para quantificação de metais e elementos terras raras, espectrometria de absorção atômica por forno de grafite para Cd e Pb e geração de vapor frio para Hg total, e Análise Química distintas para a quantificação de metais e contaminantes orgânicos. A NAA foi realizada nas amostras de sedimento das 2ª e 3ª campanhas e análise química foi realizada nas amostras da 4ª campanha (junho de 2011).

A NAA quantificou os seguintes metais e terras raras: Arsênio, Bário, Bromo, Cálcio, Cério, Cobalto, Cromo, Césio, Európio, Ferro, Háfênio, Potássio, Lantânio, Lutécio, Manganês, Sódio, Neodímio, Rubídio, Antimônio, Escândio, Samário, Tântalo, Térbio, Tório, Titânio, Urânio, Vanádio, Itérbio e Zinco.

Para o preparo das amostras submetidas à Análise por Ativação Neutrônica foram realizadas as etapas de separação conforme a recomendação do laboratório: as alíquotas de sedimento que seriam utilizadas para a determinação dos contaminantes, 200 mL de sedimento de cada amostra foram colocados em um béquer e pesados em balança digital (peso úmido). Posteriormente, as amostras foram depositadas em bandeja de vidro e secas a 40°C em estufa ventilada.

As amostras secas foram peneiradas em malha de 2 mm. O material retido nesta malha foi pesado e descartado. Da fração menor que 2 mm uma parte foi separada em saco plástico, a outra foi moída em almofariz de ágata e peneirada novamente (peneira de 200 mesh), a fim de conseguir uma fração de sedimento mais fina. Esta fração também foi acondicionada em saco plástico.

Finalizado o preparo das amostras de sedimentos, estas foram enviadas ao Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN/CRPq), onde foram irradiadas no Reator IEA-R1. Este procedimento foi realizado com as amostras de sedimento das 2ª e 3ª campanhas. Detalhes da metodologia de análise por ativação neutrônica (NAA) estão descritos em Larizatti *et al.* (2001). A determinação de Hg total nessas amostras foi feito pelo método de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), também no LAN. Detalhes dessa metodologia foram publicados em Favaro *et al.* (2007). Os detalhes da metodologia para a determinação dos metais Cd e Pb por GFAAS em sedimentos estão descritos em Guimarães (2011).

Na 4ª campanha, com a finalidade de determinar a presença de metais e contaminantes orgânicos nas amostras de sedimento, como HPAs e PCBs, foram realizadas várias análises químicas, sobretudo cromatografia gasosa em laboratório contratado (Bioagri Ambiental Ltda.) visando ao atendimento dos parâmetros estabelecidos no CONAMA 344/04 para compostos presentes no sedimento. No dia da coleta, alíquotas de sedimento, de aproximadamente 0,5 kg, foram separadas em três recipientes e armazenadas em gelo até a chegada ao laboratório onde seriam realizadas as análises.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de toxicidade foram aplicados em amostras de água e sedimento do rio Cubatão e seus afluentes, com a avaliação de efeitos agudos com a bactéria *Vibrio fischeri* e efeitos crônicos com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* expostos as amostras de água e avaliação de efeitos agudos com o anfípoda *Hyalella azteca* exposto ao sedimento integral. Além disso, a análise de crescimento corpóreo destes últimos, quando expostos ao sedimento, também foi realizada.

A determinação dos principais contaminantes, como metais, HPAs e PCBs, presentes nos sedimento foram realizadas através de Análise por Ativação Neutrônica, para metais e Análise Química para metais e contaminantes orgânicos.

5.1. Ensaios de toxicidade

Na tabela 6 e na figura 26 foram organizados os valores de CE50(%) de *Vibrio fischeri*, obtidos nas quatro campanhas realizadas neste estudo para os sete pontos analisados no rio Cubatão e para os dois pontos em seus afluentes. Na tabela 5 além dos valores de CE50, foram apresentados os respectivos intervalos de confiança (o intervalo de confiança é um intervalo em torno do valor obtido, que deve conter o valor verdadeiro com probabilidade conhecida, e quanto menor sua extensão, maior a precisão). A fim de conseguir menores valores de intervalos de confiança, foram realizados experimentos prévios com diferentes concentrações de amostra, chegando às concentrações que apresentaram melhores valores de intervalo, que foram utilizadas neste trabalho. Cabe ressaltar que na 1ª campanha (Março/2010) apenas as amostras procedentes dos locais P0, P2 e P5 foram analisadas.

O ensaio com *V. fischeri* consiste na análise da perda de luminescência da bactéria em contato com a amostra, durante um período de 15 minutos de exposição. O resultado é expresso em CE(I)50 que representa a concentração da amostra que resultou em 50% de perda de luminescência da bactéria em decorrência da exposição.

TABELA 6. Valores de CE_{50} obtidos na exposição de *Vibrio fischeri* à água do Rio Cubatão, com intervalos de confiança.

CE 50 (% , v/v, 15min)				
	<i>Campanha 1</i>	<i>Campanha 2</i>	<i>Campanha 3</i>	<i>Campanha 4</i>
P0	71,61 (18,46-277,72)	48,05 (26,53-87,03)	36,33 (20,47-64,48)	36,30 (26,61-49,52)
P1	NR	33,12 (8,22-133,46)	37,90 (21,86-67,51)	45,57 (35,44-58,58)
P2	50,43 (32,25 - 78,85)	40,0 (12,20 - 131,17)	44,84 (26,15 - 76,87)	42,35 (27,95-64,17)
P3	NR	31,90 (8,07 - 126,08)	39,11 (27,97 - 54,68)	43,04 (28,46-65,07)
P4	NR	40,95 (23,43 - 71,54)	35,66 (18,46 - 68,87)	41,45 (30,63-56,11)
P5	51,89 (35,32-76,24)	31,28 (14,11 – 69,35)	34,43 (19,08 - 62,10)	53,99 (30,23-96,44)
P6	NR	34,15 (15,25 – 76,49)	41,04 (27,47 - 61,32)	43,19 (33,53-55,64)
PE	NR	38,09 (10,26 – 141,47)	32,64 (11,67 - 91,24)	42,43 (24,56-73,31)
PI	NR	58,13 (29,89 - 113,04)	35,55 (16,63 - 75,99)	49,25 (14,97-162,02)

Foram obtidos alguns intervalos de confiança extremamente elevados em alguns ensaios com *V. fischeri*, o que está relacionado à característica da amostra, quando esta induz uma perda muito brusca da luminescência na última concentração-teste, da série de diluição (70%). Com base em análise de regressão linear, utilizando quatro valores de efeito gama, a análise busca um valor elevando substancialmente o intervalo de 95% de confiança além dos 100% de amostra, a exemplo do valor para amostra PI = 49,25%, tendo encontrado um intervalo de confiança variando entre 14,25 a 162,02. Outro exemplo ainda com maior intervalo é o da amostra P0 (campanha 1) 18,46 a 277,72, com CE_{50} calculada em 71,61% (Tabela 6). Apesar disso, é possível verificar que os valores obtidos no conjunto são bastante coerentes com aqueles em que o intervalo foi adequado.

FIGURA 26. CE_{50} obtidas nos ensaios em *V. fischeri* em amostras de águas, em função do período amostrado, e respectivos desvios padrão.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, analisa-se que todas as amostras apresentaram toxicidade para *Vibrio fischeri* com valores de CE_{50} (%) que variaram entre 31,28 e 71,61, valores referentes ao P5 e P0, respectivamente. Para P0, os valores de CE_{50} variaram entre 71,61 (1ª campanha) e 36,30 (4ª campanha), indicando aumento da toxicidade das amostras de água para *V. fischeri* provenientes deste local no decorrer do estudo.

De acordo com o sistema de classificação de Bullich (1992) para toxicidade aguda com *V. fischeri*, o grau de toxicidade é estabelecido conforme os valores de CE_{50} (%). Para valores de $CE(I)_{50} < 25,00\%$ as amostras são consideradas “muito tóxicas”; entre 25% e 50%, “tóxicas”; entre 51% e 75%, “moderadamente tóxicas”; > 75% “levemente tóxicas”. Utilizando esse sistema de classificação para este trabalho, a maior parte das amostras de água foram consideradas tóxicas para *V. fischeri*, principalmente nas 2ª, 3ª e 4ª campanhas, com valores de $CE(I)_{50}$ menores que 50%.

Em relação à toxicidade das águas para *V. fischeri* em cada campanha, pode-se analisar que a 1ª campanha foi a que apresentou os maiores valores para CE_{50} nos pontos amostrados, caracterizando menor toxicidade das amostras, este fato pode estar associado ao período de chuvas que contribui para uma maior dispersão dos poluentes. Vale ressaltar também, que durante o estudo, os maiores valores de CE_{50} foram 58,13 e 71,61, correspondentes as amostras de água dos pontos PI e P0, localizados em locais mais preservados, já os menores valores de CE_{50} foram encontrados nas amostras dos pontos P3

e P5 com valores de 31,90 e 31,28, respectivamente. Estes pontos estão em locais mais industrializados, o P3 sofre influência direta das águas vindas da usina Henry Borden e o P5 além de estar próximo a indústria química Carbocloro, é um dos últimos pontos do rio considerado para este estudo, portanto, sofrendo influência de todos os contaminantes despejados ao longo do curso do Rio Cubatão e seus afluentes.

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* expostas a água do rio Cubatão e seus afluentes (rios Perequê e Pilões) foram organizados na figura 27 e na tabela 7, sendo que os valores representam a média de neonatos obtidos durante cada ensaio, no período do estudo (março/2010 a junho/2011). Utilizando o teste “t” por bioequivalência, nenhuma das amostras apresentou diferença significativa em relação ao controle (mortalidade/reprodução), não sendo consideradas tóxicas para o organismo. Ressaltando que na 1ª campanha apenas as amostras provenientes dos locais P0, P2 e P5 foram analisadas.

FIGURA 27. Média de neonatos de *C. dubia* obtida da exposição à água, em função do período amostrado, com respectivos desvios padrão.

TABELA 7. Média de neonatas de *C. dubia* obtida, por ponto analisado, nas quatro campanhas do estudo.

	1ª Campanha	2ª Campanha	3ª Campanha	4ª Campanha
Controle	23,5	17,8	23,3	23,8
P0	22,7	21,3	22,4	20,0
P1	NR	17,6	20,1	17,0
P2	17,7	18,1	20,6	21,1
P3	NR	18,6	26,8	24,0
P4	NR	19,6	27,3	25,6
P5	21,3	20,7	30,5	15,7
P6	NR	21,3	25,7	23,8
PE	NR	26,5	22,5	18,8
PI	NR	27,4	21,0	18,0

Legenda: NR- Não Realizado.

Na figura 28 estão apresentadas as médias de neonatas de *C. dubia* obtidas no decorrer do estudo.

FIGURA 28. Média de neonatas de *C. dubia* obtida das quatro campanhas realizadas no estudo, com desvio padrão.

Analisando os resultados dos ensaios de toxicidade visando aos efeitos crônicos da água em *C. dubia*, pode ser observado que nenhum dos pontos apresentou toxicidade, em todo o período compreendido no estudo, com base na análise estatística utilizada (Teste “t” por bioequivalência), sendo que a constante de bioequivalência (B) calculada por Bertoletti *et al.* (2007) para *Ceriodaphnia dubia* (B=0,79) foi utilizada nos cálculos.

Na 1ª campanha a média de neonatos de *C. dubia* obtidos durante a exposição à água foi próxima de 20, para todas as amostras. Já na 2ª campanha as maiores médias foram resultantes dos organismos expostos às amostras do P0, PE e PI, com média de neonatas superior a 20. Na 3ª campanha, a média de neonatos de *C. dubia* foi superior a 20, em todas as amostras. Na 4ª campanha as maiores médias foram verificadas nos organismos expostos a água proveniente do P3 e P4, porém nesta campanha foram verificadas menores médias, quando comparadas com as outras campanhas, para os organismos expostos às amostras provenientes de PE e PI.

Durante o trabalho houve variação de nascimentos de *C. dubia* em função da exposição a água proveniente de cada local. No caso da amostra do P5, por exemplo, na 3ª campanha a média de neonatas durante a exposição a água atingiu 30,5, enquanto que na 4ª campanha, este valor foi de apenas 15,7, fato que pode estar relacionado com a maior disponibilidade de matéria orgânica na água naquele momento (3ª campanha).

Com relação aos sedimentos do rio, os resultados dos ensaios de toxicidade aguda com *Hyalella azteca* em sedimento integral estão organizados na figura 29, que possibilitam verificar a porcentagem de sobrevivência dos organismos expostos. No total foram analisadas amostras de seis pontos, quatro no rio Cubatão e dois nos seus afluentes, ressaltando que na 1ª campanha foram analisadas amostras provenientes dos locais P0, P2 e P5. Foram consideradas tóxicas as amostras para as quais a mortalidade obtida foi estatisticamente diferente do controle, de acordo com o teste “t” por bioequivalência. A constante de bioequivalência (B) calculada por Bertolotti *et al.* (2007) para *Hyalella azteca* (B=0,89) foi utilizada nos cálculos. Os pontos em que foi encontrada diferença significativa com o controle (mortalidade) encontram-se destacados (*).

FIGURA 29. Porcentagem de sobrevivência de *Hyalella azteca* durante exposição ao sedimento integral, com respectivos desvios padrão.

Das figuras 30 a 35 estão representadas as porcentagens de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral do local amostrado.

FIGURA 30. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – P0.

FIGURA 31. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – P2.

FIGURA 32. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – P4.

FIGURA 33. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – P5.

FIGURA 34. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – PE.

FIGURA 35. Porcentagem de sobrevivência de *H. azteca* durante exposição ao sedimento integral – PI.

Diante dos resultados, pode ser observado que na 2ª campanha, as amostras de sedimento provenientes de P2 e P5 apresentaram toxicidade para *H. azteca* quando exposto ao sedimento integral, evidenciados pelo teste de “t” por bioequivalência. Estes apresentaram uma porcentagem de sobrevivência de 45% e 42,5%, respectivamente. Nas campanhas 1 e 3, nenhuma das amostras apresentaram toxicidade, sendo a porcentagem de sobrevivência superior a 60% em todos os pontos. Na 4ª campanha (Junho/2011) as amostras procedentes de P5 apresentaram toxicidade para o organismo, com sobrevivência de apenas 17, 5% . A fim de confirmar tal resultado foi realizado outro ensaio para essa amostra, sendo verificada sobrevivência de apenas 5% dos organismos (Figura 33).

A toxicidade determinada nas amostras das 2ª e 4ª campanhas pode estar relacionada ao período em que os índices pluviométricos foram relativamente menores (agosto/2010 e junho/2011), podendo ocorrer concentração de contaminantes associados ao sedimento e a água. Os demais momentos de coletas ocorreram em período de chuva. Além disso, a toxicidade observada nas amostras do P5, na 4ª campanha, pode estar relacionada à contaminação do sedimento por óleo, pois foi observado resíduo de óleo nas amostras de sedimento deste ponto (Figuras 36 e 37).

FIGURA 36. Sedimento do ponto P5 no dia da realização da coleta (4ª campanha).

FIGURA 37. Sedimento do P5 após realização do ensaio com *H. azteca*.

As amostras de sedimento provenientes do P0 não resultaram em toxicidade para *H. azteca* expostas ao sedimento, com sobrevivência em todas as campanhas superior a 80% (figura 30), ideal se considerada uma região de maior preservação. As amostras provenientes do P2 (Figura 31) apresentaram toxicidade apenas na 2ª campanha, sendo observado aumento na porcentagem de sobrevivência nas 3ª e 4ª campanhas, com valores acima de 90%.

As amostras provenientes do PE não apresentaram toxicidade em nenhuma das campanhas, porém na 3ª campanha houve uma menor taxa de sobrevivência dos organismos expostos, com sobrevivência de aproximadamente 60% (Figura 34). O mesmo padrão foi observado para o PI, em que na 3ª campanha resultou em sobrevivência de 60%, com aumento desta porcentagem na 4ª campanha para 97,5% (Figura 35).

Na tabela 8, está apresentada a classificação dos resultados dos ensaios em relação à toxicidade após análise estatística, para os três organismos analisados neste estudo.

TABELA 8. Classificação dos resultados dos ensaios de toxicidade após análise estatística: Teste “t” por bioequivalência para *C. dubia* e *H. azteca* e classificação de Bullich (1992) para *V. fischeri*.

	Campanha	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6	PE	PI
<i>C. dubia</i> (água)	1	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	2	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	3	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	4	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>V. fischeri</i> (água)	1	Md	NR	T	NR	NR	Md	NR	NR	NR
	2	T	T	T	T	T	T	T	T	Md
	3	T	T	T	T	T	T	T	T	T
	4	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>H. azteca</i> (sedimento Integral)	1	NT	NR	NT	NR	NR	NT	NR	NR	NR
	2	NT	NT	T	NT	NT	T	NT	NT	NT
	3	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	4	NT	NT	NT	NT	NT	T	NT	NT	NT

Legenda: NR- Não Realizado, NT- Não Tóxico, Md- Moderadamente Tóxico, T- Tóxico

Com relação à dados de estudo anterior no rio Cubatão, Moreira *et al.* (2008) evidenciaram efeito crônico para os organismos *C. dubia* em água superficial, interface sedimento-água e elutriato do sedimento. Outros estudos no Rio Cubatão evidenciaram efeitos tóxicos em região estuarina em água intersticial do sedimento para *L. variegatus* (Prospéri, 2002) e interface sedimento-água para o mesmo organismo (Pusceddu *et al.*, 2007).

No presente trabalho, embora não tenha sido verificado efeito crônico para *C. dubia* expostas à água do rio, foi observada menor taxa de reprodução nas amostras dos locais P1, P2 e P5 e as amostras de sedimento integral provenientes de P2 e P5 apresentaram toxicidade aguda para *H. azteca*.

Com relação aos resultados obtidos pela CETESB sobre lançamento de efluentes industriais, foi identificado no ensaio de toxicidade com *C. dubia*, que o ponto próximo ao canal de Fuga II da Usina Henry Borden apresentou 25% dos resultados em não conformidade com os padrões de qualidade descritos pela legislação, em 2011; em 2010, 80% e a média entre 2005-2009 foi de 93%. No ponto próximo à Ponte Preta e às Indústrias Químicas Carbocloro, a porcentagem de resultados em não conforme foi, em 2011, de 0%; em 2010, de 20% e a média entre 2005-2009 foi de 33%. Já no ponto monitorado no rio Perequê, esta porcentagem de resultados em não conforme com os padrões de qualidade foi de 50% em 2011, 20% em 2010 e entre 2005 e 2009 foi de 72%. Nota-se que estes valores vêm obtendo melhora significativa desde 2005.

Com relação ao Índice de Qualidade de Água para proteção da Vida Aquática (IVA), realizado pela CETESB, baseado na realização de ensaio ecotoxicológico com *Ceriodaphnia dubia*, as águas dos rios Cubatão e Perequê e do Canal de Fuga II foram classificadas entre boa e regular, em 2011. Observa-se melhora deste indicador ao longo dos anos de monitoramento, que é registrado desde 2002, em 2009, por exemplo, para o Canal de Fuga II o IVA foi considerado péssimo e em 2011, regular.

No ambiente marinho também existem muitas evidências de efeitos tóxicos, principalmente associados à atividade portuária. Em avaliação do sedimento do Sistema Estuarino Santos/São Vicente, com *Tiburonella viscana*, foi verificada porcentagem de mortalidade de até 80%. A alta toxicidade em algumas amostras foi atribuída, principalmente, as atividades portuárias e industriais, com grande descarga de contaminantes, como HPAs, por exemplo (César *et al.*, 2006).

Abessa *et al.* (2001) em estudo sobre a toxicidade de sedimento do estuário de Santos e São Vicente, com *Tiburonella viscana*, verificaram porcentagem de sobrevivência para os organismos entre 55% e 85%, sendo que das onze amostras analisadas, dez foram significativamente diferente do controle, constatando que frequentemente os sedimentos do Canal de Santos são tóxicos para os anfípodas, principalmente devido a grande concentração de contaminantes, mesmo após a remoção superficial dos sedimentos do canal, através da dragagem.

5.1.1. Análise de crescimento corpóreo – *Hyaella azteca*

A análise do crescimento corpóreo do anfípodo *Hyaella azteca* exposto ao sedimento integral, foi baseada na média do comprimento dos organismos ao final de cada ensaio, de acordo com a norma da USEPA (2000). Esta análise foi realizada à partir de 2ª campanha deste estudo. A figura 38 apresenta o valor da média encontrada em cada ponto nas três campanhas em que a biometria foi realizada. Os pontos em que foi encontrada diferença significativa com o controle (menor média de crescimento) encontram-se destacados (*).

Como já descrito, os organismos sobreviventes da exposição de 10 dias (ensaio para efeito agudo) ao sedimento integral, foram conservados em álcool 70% até a realização da análise biométrica. Esta foi feita através da medição comprimento de cada organismo, com auxílio em lupa e software específico para análise de imagens. A partir dos valores de comprimento dos organismos por ponto analisado foram obtidas as

respectivas médias aritméticas, em micrometros (μm), das dimensões dos organismos que sobreviveram à exposição, em geral de 25 a 35 organismos.

FIGURA 38. Média do comprimento (μm) dos organismos expostos ao sedimento integral, em três campanhas, com desvio padrão.

Nas figuras 39, 40, 41, 42, 43 e 44 foram apresentadas as médias do comprimento dos organismos, obtidas após exposição de *H. azteca* ao sedimento. Nota-se que os resultados do P4 e P5 de agosto de 2010, e de P5, PE e PI de fevereiro de 2011 apresentaram valores que diferem do controle, com média de comprimento inferior a este.

FIGURA 39. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral - P0.

FIGURA 40. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral – P2.

FIGURA 41. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral – P4.

FIGURA 42. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral – P5.

FIGURA 43. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral - PE.

FIGURA 44. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral - PI.

Na figura 45 estão apresentadas as médias por ponto durante as três campanhas amostradas. Nota-se que os menores valores de crescimento foram determinados em P4 e P5.

FIGURA 45. Média do comprimento dos organismos expostos ao sedimento integral, por ponto, durante as três campanhas amostradas, com barra de desvio padrão.

Analisando os valores apresentados na figura 38, observa-se que a média dos organismos nas três campanhas foi superior a 2.000,00 μm . Na 2ª campanha, os organismos que apresentaram maiores médias de comprimento foram os expostos aos sedimentos provenientes de P2, PI e PE, com destaque para o ponto PI em que a média foi superior a 3.000,00 μm , já as menores médias foram observadas nos organismos expostos ao sedimento de P4 e P5 (2.000,00 μm). Na 3ª campanha, os organismos expostos aos sedimentos dos locais P0 e P2 apresentaram maior média de comprimento dos organismos, superando 3.000,00 μm . Porém, nesta campanha foi observada uma queda no comprimento dos organismos expostos as amostras dos pontos PE e PI quando comparada com a 2ª campanha. Já na 4ª campanha os valores para PE e PI aumentaram (2.500,00 μm). Nesta mesma campanha, o sedimento do P0 resultou em valor maior comprimento dos organismos (3.000,00 μm).

Comparando os resultados de análise de crescimento corpóreo com os resultados de toxicidade aguda em sedimento integral, analisa-se que para o P0 a maior taxa de crescimento corpóreo encontrada foi na 3ª campanha com média de tamanho dos organismos superior a 3.000,00 μm , nesta mesma campanha o ensaio de toxicidade em sedimento integral evidenciou 80% de sobrevivência dos organismos expostos. Em contrapartida, a 2ª campanha evidenciou uma média do comprimento dos organismos próxima de 2.500,00 μm , e os ensaios de toxicidade aguda em sedimento integral uma porcentagem de sobrevivência próxima a 100%.

Para P2 observa-se que a maior média de comprimento dos organismos evidenciada pela biometria foi na 3ª campanha, com valor superior a 3.000,00 µm, nesta campanha a porcentagem de sobrevivência dos organismos expostos foi próxima de 100%. Na 2ª campanha o ensaio de toxicidade aguda evidenciou toxicidade para os organismos com mortalidade superior a 60%, quando evidenciou média de crescimento próxima a 2.500,00 µm.

A exposição aos sedimentos do P4 (agosto/2010) resultou em 100% de sobrevivência e média de 2.000,00 µm, sendo este valor o menor encontrado no estudo. Nas outras campanhas também não foi evidenciada toxicidade aguda para os organismos, porém com a biometria pôde ser observado que os organismos sobreviventes apresentaram média de comprimento próxima de 2.500,00 µm. Este valor sugere que embora não foi encontrada toxicidade aguda para *H. azteca* no sedimento integral, pode existir algum tipo de composto no sedimento que altere o metabolismo do crescimento destes organismos, através das análises químicas realizadas neste trabalho, foi verificado que as amostras de sedimento provenientes deste local apresentaram concentrações importantes para o cromo, bário, rubídio, radônio e mercúrio, o que será discutido mais adiante.

Padrão semelhante foi observado por Kemble *et al.* (1994) em estudo no reservatório de Milltown e no rio Clark Fork (Estados Unidos) utilizando *Hyalella azteca*. Embora não tenha sido detectada toxicidade para os organismos expostos ao sedimento integral, foi observada redução no crescimento destes organismos, em um dos locais, por exemplo, foi observada 93% de sobrevivência dos organismos expostos ao sedimento integral e média de crescimento de 3,54mm, enquanto no controle a sobrevivência foi de 86% e média de crescimento de 4,54 mm, sendo a variação de sobrevivência entre 99 e 79% e a média de crescimento entre 4,45 e 2,62mm. Segundo os autores, este fato pode estar relacionado à elevada concentração de metais no sedimento, tais como: arsênio, cobre, cádmio, chumbo, manganês e zinco e a contaminantes orgânicos. Neste estudo, a presença de metais e contaminantes no sedimento foi quantificada e será discutida mais adiante.

A amostra de sedimento proveniente do P5 (2ª campanha) foi tóxica para *H. azteca*, com porcentagem de sobrevivência próxima de 40%, a análise de crescimento corpóreo evidenciou média 2.000,00 µm, que comparada com os demais pode ser considerada uma das menores médias encontradas neste estudo. Na 4ª campanha os resultados foram piores, alta toxicidade aguda para *H. azteca* com porcentagem de sobrevivência de aproximadamente 20%, e a análise de crescimento evidenciou média

próxima de 2.500,00 μm , apenas. Estes valores sugerem a existência de efeito em decorrência de: bromo, cromo, cério, európio, lantânio, lutécio, neodímio, samário, térbio, háfnio, tório, urânio, mercúrio, além dos compostos orgânicos endrin, dibenzeno(a,h)antraceno e antraceno, determinados através das análises químicas do sedimento proveniente deste local, que serão discutidas mais adiante. De maneira geral, o P5 foi o que apresentou os menores valores de crescimento corpóreo para *H. azteca*, assim como os maiores índices de toxicidade nos ensaios em sedimento integral.

Ingersoll & Nelson (1990) em estudo no porto Waukegan (Estados Unidos) analisaram toxicidade em sedimento com *Hyaella azteca*, observando a alta sensibilidade do organismo exposto a sedimentos contaminados, principalmente com PCBs (bifenil policlorado), HPAs e metais. Foi observada pequena redução de crescimento com o aumento da toxicidade: com 90% de sobrevivência, a média de crescimento foi de 3,1 mm; e com 60% de sobrevivência, a média de crescimento foi de 2,9 mm.

Para PE e PI o mesmo padrão pode ser observado, na 3ª campanha (Fevereiro/2011) houve menor sobrevivência dos organismos expostos ao sedimento integral, próxima de 60%, e a biometria evidenciou um menor crescimento dos organismos nos dois locais, com média de comprimento próxima de 2.000,00 μm . Nas campanhas 1 e 3 a porcentagem de sobrevivência nesses locais foi superior a 80%, e as médias de crescimento corpóreo foram superiores a 2.500,00 μm , com destaque para o ponto PI que na 2ª e 4ª campanhas obteve uma porcentagem de sobrevivência de aproximadamente 100%, e média de comprimento dos organismos superior a 3.000,00 μm (2ª campanha) e próxima deste valor na 4ª campanha.

5.2. Análises físico-químicas realizadas em amostras de água.

As análises físico-químicas realizadas nas amostras de água foram: Oxigênio Dissolvido (OD), pH, condutividade, salinidade e dureza.

Na figura 46 foram apresentados os valores de Oxigênio Dissolvido na água por ponto amostrado. A variação dos valores de OD nas águas coletadas durante o estudo está apresentada na figura 47.

FIGURA 46. Oxigênio dissolvido na água (mg.L^{-1}) dos locais monitorados, nas quatro campanhas realizadas.

FIGURA 47. Média dos valores de oxigênio dissolvido nas amostras de água, nas quatro campanhas amostradas.

Na figura 47 estão representados os valores correspondentes à média obtida nas respectivas campanhas, por local amostrado. Cabe destacar que locais mais preservados (P0 e P8) resultaram em valores próximos a $8,0 \text{ mg.L}^{-1}$. Todos os valores encontrados estão em conformidade com os limites recomendados pela Resolução Conama 357/05, em que o valor de OD não deve ser inferior a $6,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

No monitoramento realizado pela CETESB, o ponto correspondente ao Canal de Fuga II apresentou média de OD de $7,7 \text{ mg.L}^{-1}$, em 2010 e $7,4 \text{ mg.L}^{-1}$ entre os anos de 2005 a 2009, este valor corrobora ao encontrado neste estudo para P3, em que a média de OD foi de $7,7 \text{ mg.L}^{-1}$. Para P5, em 2010, foi registrado valor de $7,0 \text{ mg.L}^{-1}$, valor que está próximo ao encontrado neste estudo, em que a média foi de $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Nas águas do Rio

Perequê, a Cetesb detectou $6,9 \text{ mg.L}^{-1}$ de OD, e este trabalho $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$, portanto, valor próximo ao encontrado em 2010.

Os valores de pH encontrados nas águas do Rio Cubatão e seus afluentes, estão apresentados na figura 48, enquanto as médias dos valores foram organizadas na figura 49, por ponto analisado.

FIGURA 48. Valores de pH da água no período estudado.

FIGURA 49. Média dos valores de pH, nas quatro campanhas.

Na figura 48 estão expostos os valores de pH determinados neste estudo nas águas do Rio Cubatão, pode-se observar que estes foram próximos ou superiores a 7,0. Analisando a figura 49, que mostra as médias dos valores de pH por ponto, observa-se que a média encontrada foi superior a 7,0 em todos os pontos estudados. Em estudo no Rio Cubatão, Moreira *et al.* (2008) encontraram valor de pH nas águas do rio de 7,35, o que corrobora com os valores encontrados neste estudo.

A Resolução Conama 357/05 estabelece valores permissíveis para pH de 6,0 à 9,0 para águas doces e para águas salinas e salobras entre 6,5 a 8,5; a legislação do Estado de São Paulo (Cetesb: Decreto nº 8468, 1976) estabelece valores próximos a 7,0 para água doce. O pH da água é parâmetro de vital importância para a biota aquática e também pode interferir indiretamente na precipitação de elementos químicos tóxicos como metais pesados (Piveli *et al.*, 2006).

Os valores de condutividade da água determinados estão apresentados nas figuras 50 e 51 com as médias dos valores de condutividade por ponto estudado.

FIGURA 50. Valores de condutividade da água ($\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$), por ponto e campanha.

FIGURA 51. Média dos valores encontrados para condutividade ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$), nas quatro campanhas, por ponto analisado.

Os valores da condutividade da água variaram conforme os locais amostrados. Pôde ser observado que os pontos mais preservados (P0 e P8) apresentaram menor condutividade em relação aos demais, com valores próximos a $38 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$. As águas

coletadas no Rio Perequê também apresentaram valores de condutividade inferiores a $50 \mu\text{s.cm}^{-1}$, este valor aproxima-se dos encontrados pela CETESB em ponto no rio Perequê. Em 2010, a média encontrada foi de $46 \mu\text{s.cm}^{-1}$ e a média entre os anos de 2005 a 2009 foi de $73 \mu\text{s.cm}^{-1}$. As amostras do P5 apresentaram maiores valores de condutividade em todas as campanhas, chegando a aproximadamente $2500 \mu\text{s.cm}^{-1}$ na 4ª campanha, estes podem estar relacionados à localização do ponto próxima a salina da Carbocloro S.A, ou devido a salinidade natural vinda do estuário através do ciclo de marés. Os valores determinados aproximam-se de valores encontrados pela CETESB (2005-2009 e 2010) em ponto próximo a Carbocloro, em que a média dos valores superou $1500 \mu\text{s.cm}^{-1}$.

Além destes pontos outro local também monitorado pela CETESB é o Canal de Fuga II da Usina Henry Borden, que neste trabalho corresponde ao P3. A condutividade determinada em 2010 para este local foi de $133 \mu\text{s.cm}^{-1}$ e a média entre os anos de 2005 a 2009 foi de $163 \mu\text{s.cm}^{-1}$ (CETESB, 2010). Estes valores aproximam-se dos encontrados neste trabalho, em que a média de condutividade para P3 foi de $130,3 \mu\text{s.cm}^{-1}$.

Os valores de condutividade mensurados neste trabalho variaram entre 123,2 e $153,9 \mu\text{s.cm}^{-1}$, para as amostras de água de P1, P2, P3, P4 e P6. Semelhantes àqueles reportados por Moreira *et al.* (2008), em que a condutividade obtida na água foi de $147,6 \mu\text{s.cm}^{-1}$.

Os valores encontrados para dureza na água estão apresentados na figura 52. E os valores médios por ponto estudado estão apresentados na figura 53. A variação da dureza da água coletada para o estudo foi de 8 a $88,5 \text{ mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$, média de quatro amostras.

FIGURA 52. Dureza da água ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$), por ponto e campanha.

FIGURA 53. Dureza da água por ponto amostrado (média de quatro valores, em mg CaCO₃.L⁻¹).

Analisando os valores de dureza das amostras de água verifica-se que a maioria dos resultados foram próximos a 30 mg CaCO₃.L⁻¹, com exceção do P5 que na última campanha apresentou valor próximo de 250 mg CaCO₃.L⁻¹.

A salinidade das amostras de água foi mensurada nas 3^a e 4^a campanhas, os valores obtidos estão apresentados na tabela 7. Observa-se que houve variação entre: 0 a 4‰, correspondente a P0 e P5, respectivamente.

TABELA 9. Valores de salinidade (‰) nas amostras de água das 3^a (Fevereiro/2011) e 4^a (Junho/2011) campanhas.

Pontos/ Campanhas	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6	PE	PI
3 ^a Camp.	0	2	2	2	2	2	2	2	0
4 ^a Camp.	0	2	2	2	3	4	3	0,5	0

De acordo com a legislação Conama 357/05 as águas podem ser classificadas segundo a salinidade em: águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰; águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰ e águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰. De acordo com este critério observa-se, através dos valores expostos na tabela 9, que o Rio Cubatão sofre mudanças em relação à salinidade ao longo do seu curso, podendo ser classificado como rio de água doce em alguns locais, como em P0, por possui salinidade inferior a 0,5‰, e como rio de água salobra, por possui trechos com salinidade entre 0,5 e 30‰. Tal fato pode estar relacionado à presença do estuário e ao fluxo de marés, mais de uma vez ao dia as águas do rio Cubatão entram em contato com as águas salobras do estuário devido ao ciclo de marés.

Em 2003, estudo na Baía-estuário de São Vicente detectou valores de salinidade entre 27 e 33‰, sendo as águas da Baía consideradas salobra e salina (Zangrande, 2003). Abessa *et al.* (2008) encontraram em estudo no Sistema Estuarino de Santos valores de salinidade entre 26 a 32 ‰ (água de fundo) e 30 a 36 ‰ (água de superfície), sendo as águas do estuário classificadas como salobras ou salinas dependendo do local amostrado. Em estudo no estuário do Rio Itanhaém, Seriani *et al.* (2008), encontraram valores de salinidade entre 0 e 2‰, nos locais mais próximos ao estuário foi observada maior salinidade das águas, alguns trechos do rio foram considerados de água doce e outros de água salobra. Outro estudo na região estuarina Santos/São Vicente, em 2009, detectou nas amostras de águas, salinidade de 13,4 a 26,2 ‰, característica de água salobra (Gonçalves, 2009).

5.3. Determinações de Contaminantes: Análise por Ativação Neutrônica e Análise Química do sedimento

As Análises por Ativação Neutrônica, realizadas nas amostras de sedimento (2ª e 3ª campanhas) identificaram 27 elementos. Nas tabelas 10 e 11 estão os resultados obtidos para as amostras de sedimentos coletados no rio Cubatão, nos seis pontos de amostragem e os valores de referência Upper Continental Crust (UCC) and North American Shale (NASC) (Wedepohl, 1995). Como não existem esses valores de referência (valores de fundo) para a região estudada, os valores de referência internacionais foram utilizados para comparação com os valores encontrados neste trabalho. Foi observado, na 2ª campanha (Agosto/2010) que as amostras de sedimento do P0 apresentaram maior concentração Manganês (Mn); o P2 maior concentração de Arsênio (As) e Bário (Ba); em P4 destacou-se Bromo (Br), Cromo (Cr), Ferro (Fe) e Sódio (Na). Os pontos P5 e PI apresentaram a maior concentração de todos os elementos terras raras (Ce, Eu, La, Lu, Nd, Sm, Tb e Yb), além de Hf, Th e U. O ponto PI também apresentou a maior concentração de Ca, Ti, V e Zn.

Na 2ª campanha, as amostras de sedimento do PI apresentaram valores para metais acima dos de referência, diferentemente dos resultados obtidos na 3ª campanha. As amostras de sedimento do P2 apresentaram maior concentração para Arsênio (As) e Bário (Ba), assim como na 2ª campanha; o P4 apresentou maior concentração de Bromo (Br), Ferro (Fe) e Sódio (Na); o P5, novamente, apresentou a maior concentração de todos os elementos terras raras (Br, Ce, Cr, Eu, Fe, La, Lu, Na, Nd, Sm, Tb, Yb e Zn), além de Hf, Th e U.

TABELA 10. Resultados obtidos (mg kg^{-1}) para as amostras de sedimento (duplicata) do Rio Cubatão, pela técnica de NAA (irradiações curtas e longas), (concentração e $\pm$ desvio padrão), valores UCC e NASC. 2ª campanha (Agosto/2010).

Pontos	P0		P2		P4		P5		PE		PI			
Elementos	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	UCC	NASC
As	11,4	0,3	21,2	0,5	11,5	0,3	6,6	0,2	11,9	0,3	5,4	0,3	2	2
Ba	870	33	905	37	687	36	541	29	700	33	564	27	668	636
Br	1,2	0,1	1,4	0,1	26,9	0,3	11,5	0,2	1,9	0,1	4,0	0,1	1,6	0,69
Ca (%)	0,72	0,03	0,97	0,04	1,20	0,04	1,01	0,04	0,86	0,04	1,49	0,07	2,945	2,59
Ce	69,0	2,0	75,5	2,2	97,0	2,9	202	6,2	81,5	1,3	319	5	65,7	73
Co	9,9	0,1	10,4	0,1	13,7	0,2	10,3	0,2	11,8	0,2	10,7	0,2	11,6	28
Cr	52,7	1,0	71,3	1,3	76,9	1,4	56,4	1,0	77,0	1,5	76,9	1,5	35	125
Cs	4,7	0,2	5,6	0,2	6,8	0,6	5,6	0,5	5,0	0,3	3,6	0,2	5,8	5,2
Eu	0,87	0,04	1,12	0,05	1,25	0,05	1,34	0,06	0,98	0,04	2,26	0,14	0,95	1,24
Fe (%)	2,76	0,02	3,78	0,02	4,46	0,03	3,34	0,02	4,16	0,03	4,33	0,04	3,89	4
Hf	6,5	0,2	8,7	0,3	11,5	0,4	17,0	0,6	10,3	0,4	32,8	1,2	5,8	6,3
K (%)	2,3	0,2	2,3	0,3	1,9	0,3	1,8	0,2	3,1	0,3	3,0	0,3	2,86	3,29
La	31,4	0,3	38,1	0,4	46,1	0,5	79,9	1,3	39,3	0,6	163	2,4	32,3	32
Lu	0,38	0,03	0,53	0,04	0,50	0,03	0,70	0,05	0,53	0,05	1,02	0,09	0,27	0,48
Mn	979	66	679	35	590	91	457	45	832	10	555	57	527	465
Na	3394	43	3510	44	7898	107	4689	65	2791	36	2449	32	2,57 (%)	0,75 (%)
Nd	31	3	34	4	45	4	68	5	15	2	143	11	25,9	27,4
Rb	95	5	106	6	133	9	100	7	127	7	83	5	110	125
Sb	1,3	0,1	0,8	0,1	1,1	0,1	0,68	0,04	0,8	0,1	0,7	0,1	0,31	2,09
Sc	9,3	0,2	15,1	0,3	15,0	0,3	11,0	0,2	16,9	0,3	12,8	0,2	7	15
Sm	4,9	0,1	6,2	0,1	7,8	0,1	15,9	0,2	6,8	0,1	25,0	0,5	4,7	5,7
Ta	0,9	0,2	1,1	0,2	1,4	0,1	1,4	0,2	0,77	0,05	1,1	0,1	1,5	1,12
Tb	0,7	0,1	0,8	0,1	1,0	0,1	2,1	0,1	1,2	0,1	3,3	0,2	0,5	0,85
Th	12,5	0,2	15,5	0,3	19,0	0,3	28,6	0,7	15,6	0,3	51,6	1,0	10,3	12
Ti	2928	92	3130	92	3959	92	3394	92	2928	92	6119	92	0,31 (%)	0,42 (%)
U	2,7	0,1	3,2	0,2	3,7	0,2	5,4	0,1	3,0	0,1	9,7	0,2	2,5	2,7
V	47	10	58,9	0,5	63	1	47	2	66	2	85	16	53	130
Yb	2,4	0,2	3,2	0,2	3,1	0,2	4,8	0,3	2,8	0,2	6,0	0,3	1,5	3,1
Zn	60	3	75	3	99	3	77	3	72	3	104	4	52	85

TABELA 11. Resultados obtidos (mg kg^{-1}) para as amostras de sedimento (duplicata) do Rio Cubatão, pela técnica de NAA (irradiações curtas e longas), (concentração e $\pm$ desvio padrão), valores UCC e NASC. 3ª campanha (Fevereiro/2011).

Pontos	P0		P2		P4		P5		PE		PI			
Elementos	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	UCC	NASC
As	6,2	0,2	10,9	0,5	12,1	0,5	9,1	0,5	4,9	0,4	10,5	0,5	2	2
Ba	646	30	918	47	676	46	804	37	476	35	744	38	668	636
Br	1,0	0,1	0,8	0,1	6,0	0,4	15,4	0,8	-	-	2,0	0,3	1,6	0,69
Ca (%)	0,45	0,02	0,90	0,05	1,10	0,05	1,16	0,05	0,76	0,04	0,65	0,03	2,945	2,59
Ce	54,2	1,7	70,1	2,1	100,7	4,3	220,9	3,9	82,5	2,1	73,0	1,4	65,7	73
Co	9,0	0,1	10,8	0,1	15,8	0,3	15,9	0,3	9,1	0,3	12,9	0,2	11,6	28
Cr	41,4	1,1	78,3	2,0	80,8	3,0	86,2	3,2	57,3	2,9	69,8	2,0	35	125
Cs	2,8	0,1	4,8	0,2	7,6	0,4	7,1	0,3	2,4	0,2	3,5	0,2	5,8	5,2
Eu	0,60	0,03	1,0	0,04	1,20	0,08	1,79	0,08	0,96	0,06	0,95	0,05	0,95	1,24
Fe (%)	2,10	0,02	3,99	0,03	4,68	0,05	4,68	0,06	3,03	0,06	3,94	0,05	3,089	4
Hf	3,9	0,1	9,1	0,2	10,8	0,3	24,6	0,4	9,5	0,3	9,3	0,2	5,8	6,3
K (%)	2,0	0,1	3,1	0,2	2,9	0,3	-	-	-	-	-	-	2,86	3,29
La	26,3	0,4	36,1	0,5	48,9	0,7	116,6	1,5	44,3	0,7	34,8	0,4	32,3	32
Lu	0,23	0,01	0,54	0,03	0,51	0,04	0,85	0,06	0,33	0,03	0,63	0,04	0,27	0,48
Mn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	527	465
Na	3235	51	3294	74	4485	99	5658	97	1609	58	3017	53	2,57 (%)	0,75 (%)
Nd	26	2	35	2	42	2	105	5	40	4	33	2	25,9	27,4
Rb	103	5	162	8	168	11	138	7	81	6	114	6	110	125
Sb	0,87	0,06	0,75	0,07	1,17	0,11	1,12	4,36	0,30	0,04	0,83	2,24	0,31	2,09
Sc	6,9	0,1	16,6	0,3	15,6	0,4	15,3	0,3	10,4	0,3	16,7	0,3	7	15
Sm	3,6	0,1	5,6	0,1	7,7	0,2	18,2	0,2	7,5	0,2	6,1	0,1	4,7	5,7
Ta	0,7	0,1	1,0	0,1	1,5	0,2	1,5	0,1	1,1	0,1	0,6	0,1	1,5	1,12
Tb	0,45	0,04	1,0	0,1	1,2	0,2	2,2	0,2	0,8	0,1	0,9	0,1	0,5	0,85
Th	9,7	0,2	13,8	0,4	17,6	0,5	41,8	0,9	15,4	0,5	13,8	0,3	10,3	12
Ti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,31 (%)	0,42 (%)
U	1,7	0,1	2,5	0,1	3,3	0,2	6,8	0,3	2,1	0,2	3,0	0,2	2,5	2,7
V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	53	130
Yb	1,7	0,1	3,2	0,1	3,1	0,2	5,3	0,2	2,1	0,1	3,6	0,2	1,5	3,1
Zn	47	1	77	2	105	4	113	5	75	6	67	3	52	85

A técnica de absorção atômica por forno de grafite permitiu a quantificação dos metais Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb) e pela técnica de CV AAS o Mercúrio (Hg), nas amostras de sedimento na 2ª campanha. O mercúrio também foi quantificado na 3ª campanha. A tabela 12 apresenta os resultados obtidos para estes três metais. Nota-se maior concentração de Cd em sedimento do P5; Pb em P2 e do Hg tanto nas amostras de sedimento do P4 quanto de P5.

TABELA 12. Resultados obtidos ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para metais nas amostras de sedimento do Rio Cubatão, pela técnica de espectrometria de absorção atômica (GF AAS e CV AAS), (concentração e $\pm$ desvio padrão), na 2ª campanha (Cd, Hg e Pb) e 3ª campanha (Hg).

Pontos	P0		P2		P4		P5		PE		PI	
Elementos	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV	Conc	DV
Cd	52	2	69,8	0,009	94,2	2,3	107	1,5	85	1,3	97,2	4,4
Pb	8894	95	31110	201	15320	56	10250	42	11870	73	16000	59
Hg	23,0	0,1	68,2	0,8	70,0	0,4	62,7	0,7	30,0	0,6	72,2	0,6
Hg (3ª camp.)	40,4	0,2	41,0	0,2	71,4	0,2	98,6	0,8	24,27	0,06	21,3	0,3

Quanto à análise química do sedimento, foram quantificados os parâmetros baseados na Resolução CONAMA 344/04. As análises foram feitas em laboratório especializado. Na tabela 13 constam os resultados encontrados para metais e semimetais no sedimento e os valores máximos estabelecidos pela Resolução CONAMA 344/04 (Nível 1 e 2) .

TABELA 13. Metais quantificados nas amostras de sedimento do Rio Cubatão na 4ª campanha (mg kg^{-1}).

Parâmetro	P0	P2	P4	P5	PE	PI	Conama 344- Nível 1	Conama 344- Nível 2
Arsênio	3,6	3,3	4,2	7,1	2,2	2,0	8,2	70
Cádmio	<0,05	<0,043	<0,052	<0,094	<0,058	<0,05	1,2	9,6
Chumbo	2,6	5,1	4,5	16	5,2	2,9	46,7	218
Cobre	9,0	9,6	7,0	19	8,5	6,9	34	270
Cromo	18	13	17	32	17	11	81	370
Mercúrio	<0,025	<0,021	<0,026	<0,047	<0,029	<0,025	0,15	0,71
Níquel	7,1	8,2	8,6	18	8,6	5,7	20,9	51,6
Zinco	30	27	39	91	39	29	150	410

Analisando os dados da tabela 13, observa-se que comparando os resultados obtidos com os valores máximos estabelecidos pela Resolução CONAMA 344/04- Nível 1 e Nível 2, os resultados satisfazem os limites permissíveis pela Resolução. Ainda pode-se observar que os maiores valores de metais foram determinados nas amostras de sedimento provenientes do P5 e os menores valores nas amostras do PI, para todos os metais analisados.

Os resultados obtidos na análise química do sedimento para os parâmetros carbono orgânico, nitrogênio amoniacal e total e fósforo estão expostos na tabela 14, bem como os limites permissíveis pela legislação CONAMA 344/04.

TABELA 14. Resultados dos parâmetros: carbono orgânico, nitrogênio amoniacal e total e fósforo nas amostras de sedimento (4ª campanha) e valores permissíveis pela legislação Conama 344/04.

Parâmetro	P0	P2	P4	P5	PE	PI	Conama 344- Nível 1	Conama 344- Nível 2
Carbono Orgânico (%p/p)	<0,05	<0,05	<0,05	0,54	<0,05	<0,05	10	10
Nitrogênio Amoniacal (mg kg⁻¹)	6,3	11,5	106	232	53,5	8,3	-	-
Nitrogênio Total (mg kg⁻¹)	133	289	145	268	100	93,6	4800	4800
Fósforo (mg kg⁻¹)	176	93	247	525	197	97	2000	2000

Com base nos dados expostos na tabela 14, observa-se que os parâmetros carbono orgânico, nitrogênio amoniacal e total e fósforo, para todas as amostras estiveram dentro do limite permissível pela legislação. As amostras provenientes do P5 apresentaram maiores valores para estes parâmetros, seguido de P4. Nota-se também, que o valor de nitrogênio total nas amostras do P2 foi maior quando comparado aos valores obtidos nas amostras dos outros locais.

Os contaminantes orgânicos identificados nas análises químicas estão apresentados na tabela 15, assim como os valores máximos permissíveis pela Resolução CONAMA 344/04 (Nível 1 e 2) para estes contaminantes em águas salinas e salobras. Em destaque encontram-se os valores em desacordo com a Resolução CONAMA 344/04.

TABELA 15. Compostos orgânicos quantificados nas amostras de sedimento do Rio Cubatão na 4ª campanha ($\mu\text{g kg}^{-1}$). E valores permissíveis pela legislação Conama para águas salina e salobra.

Parâmetro	P0	P2	P4	P5	PE	PI	Conama 344- Nível 1	Conama 344- Nível 2
BHC alfa	<0,095	<0,87	<0,11	<0,18	<0,11	<0,091	0,32	0,99
BHC beta	<0,095	<0,87	<0,11	<0,18	<0,11	<0,091	0,32	0,99
BHC delta	<0,095	<0,87	<0,11	<0,18	<0,11	<0,091	0,32	0,99
BHC gama	<0,095	<0,87	<0,11	<0,18	<0,11	<0,091	0,32	0,99
Cis Clordano	<0,32	<2,88	<0,35	<0,59	<0,35	<0,31	2,26	7,9
Trans Clordano	<0,32	<2,88	<0,35	<0,59	<0,35	<0,31	2,26	4,79
DDD (isômeros)	<0,16	<1,44	<0,18	<0,3	<0,18	<0,16	1,22	7,81
DDE (isômeros)	<0,16	<1,44	<0,18	<0,3	<0,18	<0,16	2,07	374
DDT (isômeros)	<0,16	<1,44	<0,18	<0,3	<0,18	<0,16	1,19	4,77
Dieldrin	<0,19	<1,73	<0,21	0,36	<0,21	<0,19	0,71	4,3
Endrin	<0,19	<1,73	<0,21	8,2	<0,21	<0,19	2,67	62,4
Soma de PCB's	<2,2	<20,2	<2,43	<4,11	<2,42	<2,12	22,7	180
Benzo(a)antraceno	3,5	12	11	43	2,4	<0,31	74,8	693
Benzo(a)pireno	4,0	8,5	6,7	55	2,1	<0,31	88,8	763
Criseno	2,8	14	8,1	43	3,3	<0,31	108	846
Dibenzeno(a,h)antraceno	0,892	<2,88	1,3	7,2	<0,35	<0,31	6,22	135
Acenafteno	<0,32	<2,88	0,451	10	0,727	<0,31	16	500
Acenaftileno	0,355	3,4	1,4	17	0,726	<0,31	44	640
Antraceno	0,352	7,6	2,4	150	1,2	<0,31	85,3	1100
Fenantreno	0,583	25	7,0	150	5,5	<0,31	240	1500
Fluoranteno	4,1	36	20	146	3,1	<0,31	600	5100
Fluoreno	<0,32	4,1	0,773	18	0,735	<0,31	19	540
2-Metilnaftaleno	<0,32	<2,88	<0,35	<5,87	1,3	<0,31	70	670
Naftaleno	<0,32	<2,88	<0,35	6,3	0,825	<0,31	160	2100
Pireno	4,0	26	169	97	3,0	<0,31	665	2600
Soma de HPAs	21	139	229	750	25	<3,94	3000	---

Legenda: : parâmetros que não satisfazem os limites permissíveis pela Resolução CONAMA 344/04 -Nível 1.

Analisando comparativamente os dados da tabela 15, observa-se que valores máximos estabelecidos pela Resolução CONAMA 344/04 (Nível 1 e Nível 2), foram atendidos em sedimentos das amostras P0, P2, P4, PE e PI. Já para P5 pode-se observar que os parâmetros Endrin, Dibenzeno(a,h)antraceno e Antraceno não satisfazem os limites. O local P5 supera os valores para determinados contaminantes no conjunto estudado, enquanto o PI apresentou os menores valores.

Com relação a classificação dos contaminantes em sedimento a partir de TEL e PEL (tabela 15), observa-se que para os pontos P0, P2, P4, PE e PI todos os parâmetros analisados foram considerados ótimos. No P5 a maioria dos contaminantes foi classificada como boa ou ótima, com exceção do Antraceno cuja concentração foi considerada regular. Esta classificação de acordo com TEL e PEL sugere que a concentração dos contaminantes considerados ótimo está abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos. Na faixa entre TEL e PEL situam-se os valores onde ocasionalmente esperam-se efeitos para a biota, estando a qualidade do contaminante entre boa e regular.

Os dados evidenciados pelas análises químicas complementam o estudo ecotoxicológico, tanto a determinação dos compostos orgânicos quanto as Análises por Ativação Neutrônica confirmaram pior situação nos sedimentos do P5, toxicidade com frequência elevada, incluindo a mortalidade do anfípoda *H. azteca* e toxicidade aguda para *V. fischeri* em todas as campanhas. Como já exposto anteriormente, o P5, se localiza próximo às salinas das Indústrias Químicas Carbocloro e sofre influência das águas salobras vindas do estuário Santos/São Vicente. Além disso, próximo a este ponto existe um pátio de ônibus as margens do rio Cubatão (23°52'33.00"S 46°24'47.86"O), outra possível fonte de contaminação, principalmente de HPAs.

Quanto aos locais PI e P0, as análises químicas e ensaios ecotoxicológicos evidenciaram condições melhores em relação aos demais. O organismo *H. azteca* exposto ao sedimento destes locais apresentou sobrevivência próxima a 100%, na maioria dos momentos coletados, bem como a reprodução de *Ceriodaphnia* também resultou bastante elevada. A bactéria *V. fischeri* resultou como indícios de efeitos, com redução da luminescência quando expostas às águas desses locais. Lembrando que o P0 localiza-se próximo aos limites do Parque Ecológico Itutinga Pilões e PI está localizado no Parque Ecológico, portanto áreas mais protegidas.

A contaminação dos sedimentos do Rio Cubatão foi evidenciada em diferentes estudos. Contaminantes orgânicos em concentrações elevadas nos sedimentos próximos ao canal da Cosipa: HPAs (109,2 a 733,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ peso seco), expondo os organismos aquáticos à contaminação, Lamparelli *et al.* (2001), valores muito superiores àqueles determinados em ambientes considerados poluídos em outras regiões do mundo, com destaque ao benzo(a)pireno (6 a 24000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ peso seco). A presença de radionuclídeos, principalmente o urânio, tório e háfio foi demonstrada por Silva *et al.* (2006). Metais pesados: 23 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cromo, 13 $\mu\text{g g}^{-1}$ de níquel, 9,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ de cobre, 0,52 $\mu\text{g g}^{-1}$ de zinco, 9,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo e 0,005 $\mu\text{g g}^{-1}$ de mercúrio, Prospéri (2002). A autora identificou, ainda, concentrações de zinco e cobre na água intersticial do sedimento que induzem efeitos tóxicos para o ouriço *L. variegatus*.

Levando em consideração o mercúrio, Siqueira *et al.* (2005); Luiz-Silva *et al.* (2006); Gomes *et al.* (2009) e o nosso estudo, confirmam que os teores mais elevados de mercúrio encontram-se nas proximidades do setor industrial e acabam contribuindo com a contaminação do estuário. Do presente estudo destaca-se a contaminação em sedimentos do P5, apesar de atenderem ao Conama 344/04; o chumbo e o mercúrio apresentam-se com números relevantes: 2ª campanha por meio da técnica de absorção atômica (GF AAS e CV

AAS), 10,250 e 0,0627 mg kg⁻¹, respectivamente e na 4ª campanha 16 e 0,047 mg kg⁻¹, respectivamente.

Muitas são as fontes desses contaminantes: a refinaria da Petrobrás, Usiminas (antiga Cosipa), a queima de combustíveis no polo industrial que gera material particulado atmosférico, o qual se deposita nos solos e nas águas. A produção de aço, de fertilizante e fosfogesso estão entre as atividades industriais associadas às concentrações de radionuclídeos no local estudado.

Já os estudos dedicados ao estuário: César *et al.* (2006) em avaliação do sedimento do sistema estuarino de Santos e São Vicente, demonstraram valores importantes para Cu, Pb e Zn, com valores que ultrapassaram os limites permitidos pela legislação CONAMA 344/04. De acordo com Lamparelli *et al.* (2001) o estuário é afetado diretamente pelo Rio Cubatão, que recebe grande parte dos efluentes do complexo industrial de Cubatão. As dragagens do canal do porto, efluentes domésticos e lixões também contribuem para a poluição da Bacia do Rio Cubatão e do sistema estuarino (Gomes *et al.*, 2009).

Com relação à concentração de contaminantes na biota, também existem evidências. Estudos em peixes identificaram mercúrio e arsênio em espécimes de peixes coletados no Rio Cubatão, Curcho (2009), sendo que o arsênio superava o limite recomendado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Em siris azuis os metais embora presentes não ultrapassaram os limites recomendados (Virga, 2006). Mesmo com esses resultados, a autora salienta a importância do monitoramento periódico destes animais, uma vez que estes se alimentam de detritos que ficam no sedimento podendo acumular poluentes e transferi-los através de seu consumo.

Em estudo com plantas superiores, típicas dos mangues de Cubatão, os elementos cádmio e cromo foram detectados em diversas amostras e a autora atribui esta contaminação ao esgoto residencial e a efluentes industriais de fundições e metalúrgicas, Ramos (2005).

Ainda com relação aos contaminantes orgânicos presentes no ambiente estudado, dados de diferentes trabalhos foram organizados na tabela 16.

TABELA 16. HPAs determinados em sedimentos do Rio Cubatão e Baixada Santista.

Valor ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Região do Rio	Referência
109,2 a 733,7	Canal da Cosipa - RC	Lamparelli <i>et al.</i> (2001)
17,2 a 126.710,0	Baixada Santista (Rio Mariana/ Canal da Cosipa – RC)	Prósperi (2002)
0,22 a 68,13	Canal da Cosipa - RC	Bícego <i>et al.</i> (2006)
0,42 - 347,55	Estuário de Santos	Umbuzeiro <i>et al.</i> (2006)
106 - 950	Estuário de Santos	César <i>et al.</i> (2006)
< 3,91	Ponto P0	Este trabalho
750	Ponto P5	Este trabalho

RC: Rio Cubatão

Em estudo de atividade mutagênica associada aos HPAs, Umbuzeiro *et al.* (2006) reportaram atividade mutagência relativamente baixa para os sedimentos do rio Cubatão.

Uma amplitude importante entre valores mínimos e máximos determinados para alguns parâmetros no presente estudo devem ser levados em consideração. Por exemplo, o antraceno ($0,31$ a $150 \mu\text{g kg}^{-1}$, em P1 e P5, respectivamente).

Durante a dragagem de sedimentos na região portuária, $194,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ de benzo(a)pireno foram determinados em sedimentos coletados na margem do canal dragado próximo a Usiminas (antiga Cosipa), Prósperi *et al.* (1998). Atualmente, $55 \mu\text{g kg}^{-1}$ foi a concentração de benzo(a)pireno presente nos sedimentos coletados próximo às Indústrias Químicas Carbocloro (dados deste estudo em amostras provenientes de P5).

Quanto ao parâmetro Dibenzeno(a,h)antraceno foi observado, neste estudo, $7,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ (P5). Bícego *et al.* (2006) também determinaram o Dibenzeno(a,h)antraceno no sedimento do rio Cubatão ($5,98$ e $7,7 \text{ ng g}^{-1}$) estes valores foram substancialmente menores quando comparados com outros pontos analisados no estudo, por exemplo, 526 ng g^{-1} quando o sedimento foi coletado próximo à Usiminas.

Além dos parâmetros já citados, outro em desacordo com a legislação CONAMA 344/04 foi o Endrin no ponto P5 em junho de 2011 ($8,2 \mu\text{g kg}^{-1}$), sendo o máximo permitido de $2,67 \mu\text{g kg}^{-1}$. O Endrin faz parte do grupo dos pesticidas organoclorados. Os compostos organoclorados destacam-se por sua toxicidade aos insetos e, sobretudo, por sua persistência no ambiente. Segundo Lamparelli *et al.* (2001) se por um

lado o poder inseticida é duradouro, por outro, a substância tóxica adentra as cadeias alimentares, acumulando-se nos organismos. Estes compostos são lipofílicos e, portanto, se concentram nas gorduras dos animais.

Devido aos impactos provocados à biota e à saúde pública, o uso de agrotóxicos organoclorados foi proibido no Brasil a partir de 1985, no entanto, devido à sua alta resistência à degradação química e biológica em condições naturais, estes compostos são ainda encontrados no ambiente, especialmente nos sedimentos e nos organismos aquáticos. Neste estudo para todos os pesticidas organoclorados analisados no sedimento os valores não ultrapassaram $1,73 \mu\text{g kg}^{-1}$, com exceção do parâmetro Endrin no ponto P5.

Neste estudo, os valores para BHC estiveram de acordo com limites recomendados, diferentemente de outras ocasiões, conforme reportado por Bícigo *et al.* (2006) ($11,8 \text{ ng g}^{-1}$), nas proximidades do complexo industrial.

Compostos fenólicos e seus derivados também são frequentemente detectados em estudos da Bacia do Rio Cubatão, Mesquita (2011) entre outros.

Outra classe de contaminantes que vêm sendo amplamente discutida é a dos fármacos. A fluoxetina, por exemplo, utilizada em antidepressivos, pode se ligar ao sedimento, afetando os organismos bentônicos, uma concentração maior que 43 mg kg^{-1} , embora não cause morte para *H. azteca*, reduz significativamente seu crescimento. Para *C. dubia* e *D. magna* este fármaco pode aumentar a taxa de fecundidade, em determinadas concentrações, $56 \mu\text{g l}^{-1}$ e $36 \mu\text{g l}^{-1}$, respectivamente. Em algumas espécies de peixes, como por exemplo, no peixe arroz (*Oryzias latipes*) foram observadas alterações na fecundidade e severas anormalidades no desenvolvimento embrionário. Para a alga *P. subcapitata* a fluoxetina reduz seu crescimento e afeta a mortalidade, com CE_{50} de $24 \mu\text{g l}^{-1}$ (Brooks *et al.*, 2003).

5.4. Análise Granulométrica do sedimento

Na tabela 17 estão apresentados os valores da granulometria do sedimento. A análise granulométrica também é um parâmetro importante que complementa a análise de contaminantes e a análise ecotoxicológica.

TABELA 17. Granulometria do sedimento (4ª campanha), em g kg⁻¹.

	P0	P2	P4	P5	PE	PI
Areia muito grossa (2 a 1mm)	327	711	7	0	0	335
Areia grossa (1 a 0,5mm)	381	142	197	18	49	232
Areia média (0,5 a 0,25 mm)	175	58	528	227	227	157
Areia fina (0,25 a 0,125 mm)	39	46	98	357	316	87
Areia muito fina (0,125 a 0,062mm)	22	18	56	106	188	50
Silte (0,062 a 0,00394mm)	55	25	104	261	194	125
Argila (0,00394 a 0,0002mm)	1	0	10	31	26	14

Analisando dados da tabela 17, observa-se que para P0 houve predominância de areia grossa, para o P2 de areia muito grossa, assim como para o ponto PI. O ponto P4 teve predominância de areia média, e os pontos P5 e PE de areia fina.

Bícego *et al.* (2006) encontram alto percentual de areia grossa nos sedimentos do rio Cubatão, ressaltando que este tipo de sedimento não é favorável para a adsorção de compostos orgânicos. Neste estudo as amostras do P0 e PI tiveram maior fração de areia grossa e foram as que menos apresentaram contaminação por compostos químicos.

César *et al.* (2006) em estudo do sedimento do sistema Estuarino Santos e São Vicente, também encontraram padrão de granulometria no sedimento próximo aos valores destes estudo, duas amostras com areia muito fina e as demais versando entre areia grossa e média.

Geralmente os contaminantes associam-se a frações mais finas de sedimento, pois estes têm capacidade de adsorção maior quando comparado com as frações mais grossas de sedimento. Propriedades como a razão entre a área de superfície e o volume, e carga elétrica superficial, conferem ao sedimento mais fino uma maior capacidade de sorção de contaminantes. Deste modo, os sedimentos com grãos finos são responsáveis pelo transporte de compostos químicos no corpo hídrico (Rand *et al.*, 1995).

Neste estudo, as amostras de sedimento que apresentaram maior contaminação por compostos químicos foram as do P5 (local próximo às Indústrias Químicas Carbocloro). De acordo com a tabela 17, pode-se observar que neste sedimento há predominância de areia fina, o que corrobora com o descrito na literatura sobre este tipo de fração do sedimento, onde frações com grãos mais finos tendem a acumular mais compostos.

5.5. Ensaios de sensibilidade e carta-controle

O controle da sensibilidade dos organismos, através da realização periódica de ensaios com substâncias de referência, é um procedimento que permite maior precisão e confiabilidade nos resultados obtidos em laboratório. A realização de ensaios com substância de referência garante a qualidade analítica de estudos que utilizam testes de toxicidade aguda e crônica (Aragão & Araújo, 2008).

No presente trabalho foram realizados ensaios de sensibilidade com a substância de referência KCl (Cloreto de Potássio) para os crustáceo *Ceriodaphnia dubia* e para o anfípoda *Hyalella azteca*. Já para a avaliação da sensibilidade da bactéria marinha *Vibrio fischeri*, foi utilizada como substância referência o fenol.

Nas figuras 54, 55 e 56 estão apresentadas as cartas controles feitas à partir dos ensaios de sensibilidade realizados mensalmente em laboratório. As cartas controle foram realizadas com os resultados obtidos de CE50 para *Hyalella azteca* e *Vibrio fischeri* e CI25 para *Ceriodaphnia dubia*. A concentração inibitória, CI(25) representa a concentração da substância referência que reduz a reprodução dos organismos em 25% em comparação com o controle.

Com os resultados da carta-controle, pode-se observar que todos os ensaios realizados estiveram dentro da faixa de sensibilidade, garantido, portanto, a confiabilidade dos ensaios e resultados de toxicidade com as amostras ambientais.

Na figura 54 está apresentada a carta controle dos resultados obtidos nos ensaios de sensibilidade para o organismo *Vibrio fischeri*. Os resultados mostraram que a faixa de sensibilidade esteve entre 9,68 e 20,61 mg.l⁻¹, a média foi de 15,14 mg.l⁻¹ e desvio padrão de 2,73.

FIGURA 54. Carta controle de sensibilidade de *V. fischeri* para o fenol.

Na figura 55 está apresentada a carta-control de resultados obtidos nos ensaios de sensibilidade para o organismo *Ceriodaphnia dubia*. Os resultados compreenderam faixa de sensibilidade entre 62,0 e 208,8 mg.l⁻¹, média de 135,45 mg.l⁻¹ e desvio padrão de 36,70.

FIGURA 55. Carta controle de sensibilidade de *C. dubia* para o KCl.

Na figura 56 está apresentada a carta controle dos resultados obtidos nos ensaios de sensibilidade para *Hyaella azteca*. Os resultados compreenderam faixa de

sensibilidade entre 145,32 e 275,13 mg.l⁻¹, média de 210,23 mg.l⁻¹ e desvio padrão de 32,45.

FIGURA 56. Carta controle de sensibilidade de *H. azteca* para o KCl.

5.6. Correlação de Pearson

O cálculo da correlação de Pearson foi utilizado para correlacionar causa-efeito, entre metais e compostos orgânicos presentes no sedimento e os resultados de toxicidade para *H. azteca*. Para o cálculo foi utilizada a média dos valores das análises físico-químicas das quatro campanhas, assim como a média entre as quatro campanhas dos resultados dos ensaios de toxicidade.

Na classificação do coeficiente de correlação de Pearson, o “r” de Pearson pode variar de -1 à 1, sendo que -1 é uma perfeita correlação negativa e 1 é uma perfeita correlação positiva. No caso da correlação negativa, a correlação entre as variáveis é inversamente proporcional e na positiva a correlação entre as variáveis é diretamente proporcional. A classificação do coeficiente de correlação de Pearson está exposta na tabela 18.

TABELA 18. Classificação do coeficiente de correlação de Pearson.

Coeficiente de correlação	Correlação	Coeficiente de correlação	Correlação
$r=1$	Perfeita Positiva	$-0,1 < r < 0$	Ínfima negativa
$0,8 \leq r < 1$	Forte positiva	$-0,5 < r \leq -0,1$	Fraca negativa
$0,5 \leq r < 0,8$	Moderada positiva	$-0,8 < r \leq -0,5$	Moderada negativa
$0,1 \leq r < 0,5$	Fraca positiva	$-1 < r \leq -0,8$	Forte negativa
$0 < r < 0,1$	Ínfima positiva	$r = -1$	Perfeita negativa
$r=0$	Nula		

Na tabela 19, estão apresentados valores do coeficiente de Pearson (r) e correlação entre metais no sedimento (NAA e Cromatografia) e os resultados de toxicidade para *H. azteca*, enquanto na tabela 20 estão apresentados os valores para alguns compostos orgânicos. Nota-se que na 3ª campanha houve fraca correlação positiva entre metais presentes no sedimento e os resultados de toxicidade. Quanto à correlação de compostos orgânicos (tabela 20) nota-se uma fraca correlação positiva entre os resultados de toxicidade para *H. azteca* e a presença de PCBs.

TABELA 19. Valores do coeficiente de Pearson (r) e correlação entre metais no sedimento (NAA e Cromatografia) e os resultados de toxicidade para *H. azteca*.

	2ª campanha (NAA)		3ª campanha (NAA)		4ª campanha (cromat.)	
	(r)	Correlação	(r)	Correlação	(r)	Correlação
Arsênio	-0,36	Fraca Negativa	0,45	Fraca Positiva	-0,91	Forte Negativa
Cádmio	-0,09	Ínfima Negativa	-	-	-0,95	Forte Negativa
Chumbo	-0,40	Fraca Negativa	-	-	-0,97	Forte Negativa
Cobre	-	-	-	-	-0,92	Forte Negativa
Cromo	0,38	Fraca Positiva	0,45	Fraca Positiva	-0,93	Forte Negativa
Mercúrio	-0,21	Fraca Negativa	0,31	Fraca Positiva	-0,95	Forte Negativa
Níquel	-	-	-	-	-0,98	Forte Negativa
Zinco	0,39	Fraca Positiva	0,06	Ínfima Positiva	-0,98	Forte Negativa

TABELA 20. Valores do coeficiente de Pearson (r) e correlação entre os resultados de toxicidade para *H. azteca* e alguns compostos orgânicos encontrados no sedimento (4ª campanha).

Parâmetros	(r)	Correlação
Soma HPAs	-0,98	Forte Negativa
Soma PCBs	0,12	Fraca Positiva
Endrin	-0,94	Forte Negativa
Antraceno	-0,97	Forte Negativa
Dibenzeno(a,h)antraceno	-0,91	Forte Negativa

6. CONCLUSÕES

- Foi observada toxicidade das águas para *Vibrio fischeri* em todos os pontos e campanhas realizadas, diferentemente dos resultados com *C. dubia*.
- As amostras de água e de sedimento de P0 e PI apresentaram menor toxicidade para todos os organismos empregados, enquanto que amostras do P2 e P5 apresentaram toxicidade aguda durante a exposição ao sedimento integral para *Hyalella azteca* (2ª e 4ª campanhas).
- Não foi observada toxicidade para *Ceriodaphnia dubia* através da análise estatística, porém observou-se um menor número de neonatos nascidos durante a exposição às amostras de água procedentes de P1, P2, P4 e P5.
- A análise do crescimento corpóreo de *Hyalella azteca* evidenciou que os organismos expostos aos sedimentos provenientes dos pontos P4 e P5 apresentaram média de crescimento menor, quando comparada aos outros locais estudados.
- Os resultados obtidos pelas técnicas de Análise por Ativação Neutrônica (NAA) e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) demonstraram que as amostras de sedimento dos pontos P5 e PI apresentaram-se mais contaminadas por metais. O mesmo ocorrendo com os contaminantes orgânicos, em amostras de P5. Nos sedimentos de P5 foram observados: bromo, cromo, cézio, európio, lantânio, lutécio, neodímio, samário, térbio, háfnio, tório, urânio e mercúrio; e dos compostos orgânicos: endrin, dibenzeno(a,h)antraceno e antraceno.

RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Manter ensaios que envolvam parâmetros como a biometria de organismos, especialmente para os locais próximos ao Hospital Ana Costa (P4) e das Indústrias Químicas Carbocloro (P5).

APÊNDICES

APÊNDICE A. Fichas dos ensaios de toxicidade aguda em água com *Vibrio fischeri*.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			1ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			10,23	20,47	40,95	81,90
P0	I ₀	112	111	105	93	89
	I ₁₅	105	97	96	72	22
CE(I) 50%= 71,61			Y = 2,79			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			1ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			10,23	20,47	40,95	81,90
P2	I ₀	98	81	92	112	111
	I ₁₅	91	74	73	74	22
	CE(I) 50%= 50,43		Y = 3,68			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			1ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			10,23	20,47	40,95	81,90
P5	I ₀	92	94	102	93	96
	I ₁₅	80	81	81	60	17
	CE(I) 50%= 51,89		Y = 3,91			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			2ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P0	I ₀	81	76	106	93	96
	I ₁₅	51	47	50	34	11
	CE(I) 50%=48,05		Y = 4,49			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			2ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P1	I ₀	111	112	112	115	88
	I ₁₅	79	59	57	37	1
	CE(I) 50%=33,12		Y = 61,63			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			2ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P2	I ₀	94	89	96	105	83
	I ₁₅	66	52	57	42	3
	CE(I) 50%=40,0		Y = 18,42			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>			2ª Campanha			
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P3	I ₀	81	90	93	95	93
	I ₁₅	67	55	48	35	1
	CE(I) 50%=31,90		Y = 75,92			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 2ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P4	I ₀	73	90	108	94	115
	I ₁₅	51	47	53	36	14
	CE(I) 50%=40,95 Y = 4,73					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 2ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P5	I ₀	89	97	93	86	106
	I ₁₅	72	53	45	26	4
	CE(I) 50%=31,28 Y = 20,43					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 2ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P6	I ₀	96	86	97	94	86
	I ₁₅	79	56	49	34	3
	CE(I) 50%=34,15 Y = 22,59					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 2ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PE	I ₀	98	90	75	87	77
	I ₁₅	72	54	44	38	2
	CE(I) 50%=38,09 Y = 27,28					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						2ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PI	I ₀	90	98	88	95	71
	I ₁₅	47	53	47	41	8
	CE(I) 50%=58,13		Y = 3,83			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P0	I ₀	92	109	91	86	87
	I ₁₅	115	101	75	50	12
	CE(I) 50%=36,33		Y = 8,06			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P1	I ₀	107	105	95	104	95
	I ₁₅	122	86	67	65	17
	CE(I) 50%=37,90		Y = 5,37			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P2	I ₀	95	88	83	97	76
	I ₁₅	104	76	66	64	17
	CE(I) 50%=44,84		Y = 3,89			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P3	I ₀	83	65	66	88	67
	I ₁₅	91	52	48	45	15
	CE(I) 50%=39,11		Y = 3,89			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P4	I ₀	93	102	91	100	100
	I ₁₅	107	88	68	54	10
	CE(I) 50%=35,66		Y = 10,50			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P5	I ₀	94	93	94	91	98
	I ₁₅	106	80	69	52	16
	CE(I) 50%=34,43		Y = 16,37			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P6	I ₀	91	85	81	92	92
	I ₁₅	122	87	75	63	24
	CE(I) 50%=41,04		Y = 4,13			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PE	I ₀	97	94	86	91	84
	I ₁₅	116	83	63	48	3
	CE(I) 50%=32,64		Y = 32,48			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						3ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PI	I ₀	90	94	105	92	96
	I ₁₅	110	88	84	54	8
	CE(I) 50%=35,55		Y = 13,66			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						4ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P0	I ₀	94	89	93	95	93
	I ₁₅	104	75	61	46	15
	CE(I) 50%=36,30		Y = 5,85			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i>						4ª Campanha
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P1	I ₀	94	94	81	80	81
	I ₁₅	114	103	72	54	19
	CE(I) 50%=35,55		Y = 4,17			

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P2	I ₀	91	120	114	99	105
	I ₁₅	122	131	103	74	26
	CE(I) 50%=42,35 Y = 4,41					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P3	I ₀	94	95	95	91	89
	I ₁₅	104	88	76	55	17
	CE(I) 50%=43,04 Y = 4,79					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P4	I ₀	94	91	86	97	92
	I ₁₅	113	90	70	59	20
	CE(I) 50%=41,45 Y = 4,52					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P5	I ₀	94	91	77	90	85
	I ₁₅	106	86	74	63	28
	CE(I) 50%=53,99 Y = 2,42					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
P6	I ₀	92	82	72	82	69
	I ₁₅	104	79	57	48	14
	CE(I) 50%=43,19 Y = 4,16					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PE	I ₀	92	87	83	81	90
	I ₁₅	78	60	54	36	12
	CE(I) 50%=42,43 Y= 5,35					

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA- <i>Vibrio fischeri</i> 4ª Campanha						
Pontos	Leitura	Controle	% Concentração			
			20,7	31,6	46,66	70
PI	I ₀	92	89	101	75	85
	I ₁₅	101	97	75	57	16
	CE(I) 50%=49,25 Y= 4,83					

APÊNDICE C. Fichas dos ensaios de toxicidade aguda em sedimento integral com *Hyalella Azteca*.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							1ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,84	OD:7,20 mg.L ⁻¹	Dureza: 45 mg CaCO ₃ .L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	9	9	38	95	8,14	7,08	227,0
P0	10	4	10	10	34	85	7,88	6,99	187,7
P2	7	10	7	7	31	77,5	7,93	6,98	204,9
P5	10	9	7	9	35	87,5	7,80	5,85	228,0

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							2ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,98		OD:7,42 mg.L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(% de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	9	9	38	95	7,83	6,91	194,6
P0	10	9	8	9	36	90	7,64	6,88	179,8
P2	10	4	4	0	18	45	7,64	6,30	215,3
P4	10	10	10	10	40	100	7,84	6,87	1828

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							2ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição: Manancial: Salto-SP pH:7,98 OD:7,42 mg.L ⁻¹ Dureza: 44 mg CaCO ₃ .L ⁻¹				
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	9	10	9	9	37	92,5	7,73	6,95	203,3
P5	10	7	0	0	17	42,5	7,97	6,62	1738
PE	9	8	7	10	34	85,0	7,58	6,74	198,0
PI	10	9	10	10	39	97,5	8,44	6,77	354,0

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							3ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,96	OD:7,22 mg.L ⁻¹	Dureza: 43 mg CaCO ₃ .L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	9	9	38	95	7,96	7,25	166,3
P0	6	8	9	10	33	82,5	7,94	7,52	163,5
P2	9	8	10	10	37	92,5	8,03	7,54	235,0
P4	7	9	10	7	33	82,5	8,19	7,53	1256

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							3ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,96	OD:7,22 mg.L ⁻¹	Dureza: 43 mg CaCO ₃ .L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	9	9	38	95	8,17	7,50	202,9
P5	9	5	8	1	23	76,5	8,01	7,49	1302
PE	9	8	4	4	25	62,5	7,88	7,50	198,5
PI	8	5	7	6	26	65,0	8,04	7,56	278,0

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							4ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,88	OD:7,31 mg.L ⁻¹	Dureza: 46 mg CaCO ₃ .L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	10	10	40	100	7,82	7,0	226,0
P0	10	10	10	9	39	97,5	7,46	6,69	162,1
P2	10	10	8	9	37	92,5	7,45	6,64	194,5
P4	10	7	7	7	31	77,5	7,03	6,80	2430

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA (10 DIAS)							4ª Campanha		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>					Água de diluição:				
					Manancial: Salto-SP		pH:7,88	OD:7,31 mg.L ⁻¹	Dureza: 46 mg CaCO ₃ .L ⁻¹
	Réplicas				Total de móveis	(%) de móveis	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µS.cm ⁻¹)
	1	2	3	4					
Controle	10	10	10	10	40	100	8,29	8,02	198,3
P5	3	0	3	1	7	17,5	8,11	7,29	2190
P5 (teste 2)	1	1	0	0	5	5,0	7,44	5,22	2900
PE	9	9	10	7	35	87,5	8,15	7,95	297,0
PI	10	10	9	10	39	97,5	8,11	7,91	150,3

APÊNDICE D. Fichas dos ensaios de crescimento corpóreo com *H. azteca*.

2ª Campanha

Organismos	Cr 1	Cr2	P0	P2	P4	P5	PE	PI
1	1.783,91	2.881,46	2.340,67	3.089,50	2.911,02	2.028,62	2.971,15	3.680,98
2	2.939,63	2.144,62	2.530,95	2.266,04	1.849,06	1.833,83	2.543,69	2.538,14
3	2.248,31	2.474,10	2.737,19	2.853,54	2.016,76	2.507,76	3.314,90	3.073,82
4	2.213,62	2.410,61	2.109,49	2.592,74	1.658,55	2.333,03	2.452,00	2.592,58
5	2.042,96	2.161,59	2.868,00	2.549,12	1.607,21	1.819,99	2.459,14	2.926,74
6	2.032,19	3.046,11	2.372,17	2.191,07	2.011,65	2.811,07	3.031,77	2.237,70
7	2.583,92	2.901,99	2.299,95	2.918,61	2.441,73	1.720,10	2.837,85	2.957,39
8	2.133,81	2.047,06	2.130,99	3.556,07	1.811,92	2.117,94	2.907,89	2.733,67
9	2.457,59	2.521,91	2.522,20	2.680,87	1.695,13	2.268,67	2.529,37	2.020,62
10	1.881,79	2.607,67	2.067,58	3.271,33	1.925,48	1.973,75	3.126,76	3.436,55
11	2.546,82	2.668,43	3.032,21	2.755,77	1.786,63	1.806,25	3.149,62	2.692,70
12	2.259,54	2.594,99	2.048,32	2.969,30	2.187,19	2.803,14	2.583,48	2.987,73
13	2.515,48	2.573,84	2.550,27	2.949,31	2.019,06	2.924,08	3.120,48	2.775,04
14	2.681,75	3.016,62	2.466,66	2.577,04	1.854,47	2.106,89	2.398,39	2.108,36
15	2.020,05	2.910,48	2.254,65	2.678,66	1.930,56	2.510,92	3.362,63	3.356,48
16	2.491,16	1.961,59	1.930,36	2.450,50	2.307,79	2.896,84	3.043,86	2.784,21
17	2.455,94	2.118,60	2.367,99	2.181,58	2.625,93		2.755,47	3.383,56
18	2.777,83	2.350,64	2.443,61	2.864,99	1.902,84		2.896,90	2.787,11
19	2.057,28	2.419,43	2.908,65		1.726,01		2.463,64	2.749,04
20	2.440,71	2.448,24	2.471,29		2.688,45		3.225,95	3.521,71
21	1.943,25	2.625,15	2.540,10		2.181,93		2.518,79	3.953,17
22	2.030,56	2.729,67	2.788,43		1.986,25		2.435,69	3.969,06
23	2.786,71	2.572,99	2.162,63		1.644,92		2.738,48	3.518,85
24	2.008,06	2.249,77	1.969,33		2.438,08		2.945,88	3.047,01
25	1.853,45	3.017,28	2.628,86		2.065,66		2.851,01	3.420,40
26	2.538,40	2.519,58	2.754,92		1.526,72		2.545,39	3.334,18
27	1.742,00	2.263,96	2.043,16		2.024,89		2.699,62	2.940,20
28	2.716,75	2.979,36	2.427,36		1.950,72		2.783,00	3.770,17
29	1.984,19	2.556,81	2.033,06		2.210,62		2.592,83	3.433,82
30	2.277,13	2.771,50	2.504,29		2.054,53		2.623,46	2.663,17
31	2.794,37	2.671,24	2.779,17		2.262,23		2.462,59	3.922,05
32	2.822,81	2.794,82	2.054,29		2.308,55		2.900,71	3.875,56
33	2.313,02	2.187,81	2.112,19		1.644,74		2.492,70	2.459,09
34	2.660,55	3.042,04			2.621,37			3.759,47
35	2.107,46	2.050,87			1.553,27			3.118,33
36	1.801,09	2.844,29			1.819,07			2.547,88
37		2.335,36			1.614,24			3.151,72
38		94.472,48			1.967,66			2.899,51
39		2.553,31			1.923,85			3.272,17
40					2.333,01			3.245,72
Total	82.944,09	94.472,48	79.250,99	49.396,04	81.089,75	36.462,88	91.765,09	123.645,66
Média	2.304,00	2.553,31	2.401,55	2.744,22	2.027,24	2.278,93	2.780,76	3.091,14

3ª Campanha

Organismos	Cr 1	Cr2	P0	P2	P4	P5	PE	PI
1	2.642,42	3.896,51	3.067,31	3.748,84	2.545,17	2.779,91	2.541,41	2.232,11
2	2.353,83	2.744,90	3.645,99	3.217,00	3.282,59	2.388,37	2.205,49	2.555,37
3	2.483,60	3.595,32	3.213,50	3.077,15	3.734,22	2.294,11	2.471,12	2.172,41
4	2.427,40	2.159,94	2.494,38	3.953,22	2.627,25	2.728,41	1.803,75	2.848,69
5	2.774,58	2.321,78	3.215,76	3.438,24	2.592,29	2.143,99	2.161,72	2.004,73
6	3.096,51	2.923,48	3.125,14	3.544,95	2.323,86	2.639,49	2.302,55	2.416,51
7	2.696,82	2.366,01	3.515,58	3.406,09	2.299,49	2.380,52	2.539,82	2.177,92
8	2.801,58	2.157,89	3.216,74	2.919,98	2.288,00	2.353,16	2.756,24	2.700,01
9	1.928,15	2.723,63	3.554,78	3.076,74	2.475,57	1.856,68	1.859,47	2.336,67
10	3.108,92	2.493,21	2.842,95	3.180,40	2.915,53	2.608,17	2.415,94	2.395,44
11	3.291,91	2.441,68	2.563,36	3.374,25	3.144,43	2.092,67	1.923,70	2.730,61
12	3.446,21	2.535,36	3.544,83	3.782,48	2.730,05	2.009,88	3.093,48	2.436,22
13	4.227,57	3.047,82	3.040,24	3.328,26	3.116,75	2.310,25	2.147,93	2.406,22
14	3.265,47	3.002,73	3.294,36	3.211,95	2.770,14	2.275,99	1.967,15	2.752,06
15	4.147,96	2.478,08	3.615,36	2.909,90	3.656,09	1.770,97	2.183,60	1.553,81
16	5.062,24	1.991,13	3.054,28	2.928,72	3.075,36	2.741,61	2.111,21	2.456,39
17	3.076,03	1.790,46	3.641,06	4.050,36	2.627,18	2.017,30	2.303,54	2.394,35
18	3.975,24	2.805,18	2.538,79	3.065,52	2.811,60	2.131,67	2.834,13	2.796,97
19	4.724,76	3.076,92	3.400,75	3.123,73	2.622,06	2.464,69	2.307,61	2.198,80
20	3.550,93	2.353,40	2.750,21	3.550,01	3.230,80	2.788,22	2.063,64	2.140,42
21	2.879,45	3.058,57	3.088,17	2.165,95	3.230,80	2.369,17	3.209,77	2.356,22
22	3.145,42	3.339,75	3.268,59	2.809,16	362,13	2.288,02	2.663,46	1.997,79
23	4.551,60	2.606,26	4.404,07	2.920,86	2.694,54	1.960,16	2.223,63	1.713,99
24	3.670,21	2.558,56	3.708,63	3.878,00	2.468,38	2.447,67	2.032,99	2.242,78
25	3.293,03	3.231,11	3.538,68	3.450,70	3.188,42	1.872,65		1.972,70
26	2.607,60	2.474,90	3.222,84	2.870,37	3.188,42	2.424,34		2.231,77
27	2.859,40	2.483,07	2.734,41	2.975,46	3.699,56	2.642,10		2.498,17
28	3.084,97	2.983,79	3.761,11	2.967,58	3.559,18			3.351,99
29	3.517,53	2.401,38	3.415,77		2.712,90			2.264,12
30	3.132,04	2.723,66	3.346,31		2.580,81			2.302,20
31	2.545,90	3.083,99	2.838,62		2.985,07			2.766,84
32	2.866,31		3.509,85		2.489,16			3.238,82
33	3.128,42		3.223,74		3.966,34			2.308,68
34	3.629,95							2.223,29
35	3.762,77							
36	2.217,33							
37								
38								
39								
40								
Total	115.974,06	83.850,47	107.396,16	90.925,87	93.994,14	62.780,17	56.123,35	81.175,07
Média	3.221,50	2.704,85	3.254,43	3.247,35	2.848,31	2.325,19	2.338,47	2.387,50

4ª Campanha

Organismos	Cr 1	Cr2	P0	P2	P4	P5	PE	PI
1	2.027,54	3.771,91	2.729,14	2.349,08	3.160,72	2.397,07	2.494,20	2.609,04
2	2.265,40	4.161,89	4.324,49	2.495,33	3.210,55	2.148,02	2.556,36	3.130,91
3	1.739,61	3.754,13	2.793,05	2.589,26	2.881,12	2.331,21	2.459,10	3.563,22
4	2.180,18	2.750,18	2.752,55	3.034,34	2.499,93	3.189,91	3.595,80	2.255,00
5	2.326,83	2.235,07	2.938,21	3.044,82	3.242,53	2.699,01	2.318,95	3.558,91
6	2.003,16	3.275,19	3.940,46	2.752,60	2.991,20	2.587,43	2.090,87	3.720,56
7	1.747,18	2.569,29	2.983,79	2.191,31	2.464,04	2.947,79	2.539,18	3.403,09
8	2.737,56	2.614,14	2.765,82	2.735,47	2.214,22		2.084,86	2.905,81
9	1.689,95	3.016,10	3.275,02	2.854,16	2.727,32		2.522,84	2.661,26
10	2.158,52	2.650,54	3.436,73	4.135,22	2.183,74		2.255,51	2.717,41
11	2.504,27	1.920,89	2.628,96	2.744,85	2.779,96		2.293,27	2.499,52
12	2.194,29	3.051,20	3.396,84	2.310,67	2.811,57		2.591,26	3.306,51
13	3.054,24	2.688,69	2.190,01	2.415,29	2.770,09		2.678,29	2.622,90
14	3.193,76	2.361,22	2.710,43	3.001,41	2.015,80		2.997,43	2.686,78
15	2.498,38	2.451,80	2.278,71	2.646,23	2.699,02		3.052,82	2.936,50
16	2.104,41	3.745,58	2.464,17	2.662,46	2.939,09		3.746,15	2.579,03
17	1.727,26	3.469,56	3.083,57	1.891,61	2.765,04		2.586,66	2.812,43
18	1.994,98	2.546,63	3.014,91	3.018,23	2.462,36		2.227,27	2.552,24
19	2.055,52	2.309,15	3.789,02	2.472,71	2.203,74		3.533,20	2.553,73
20	2.764,27	2.634,50	3.404,93	3.143,84	2.905,08		3.039,86	2.677,02
21	2.960,16	3.365,52	3.317,84	3.415,75	2.453,71		3.628,30	2.624,22
22	2.856,78	4.083,17	2.965,61	2.638,60	2.254,66		2.436,10	2.800,75
23	2.328,25	2.968,61	3.687,90	2.480,25	2.047,62		2.860,54	2.380,91
24	2.271,24	2.609,99	3.086,68	3.952,61	3.635,45		2.888,85	2.969,76
25	2.412,45	2.965,82	3.346,40	2.975,37	2.888,92		2.842,63	2.832,51
26	2.134,13	3.332,72	2.875,23	2.554,81	2.912,14		3.495,18	3.661,91
27	1.975,27	3.308,36	1.708,24	2.455,75	2.382,61		2.410,24	2.302,13
28	1.964,32	4.360,65	3.249,80	2.675,05	2.275,06		2.143,65	3.031,50
29	1.955,83	3.096,32	2.837,84	2.623,29	2.755,85		3.078,20	2.667,58
30	1.632,85	2.751,66	3.656,14	3.097,69	2.257,17		1.988,78	3.106,96
31	2.637,96	2.378,81	2.316,25	2.388,41	2.679,06		2.471,62	3.056,98
32	2.425,69	2.333,90	2.447,12	3.054,35	2.660,30		2.333,20	2.667,40
33	3.073,61	2.217,38	2.307,92	2.365,65			2.300,47	2.113,65
34	3.380,65	2.680,76	1.972,15	4.040,66			2.847,46	2.765,97
35	2.407,37	2.525,61	2.796,93	2.740,15			3.464,66	3.329,52
36	2.034,78	3.031,01	2.463,84	3.458,89				3.426,15
37	1.829,88	3.586,10	2.155,73	2.929,81				2.645,00
38	2.261,37	3.045,46	3.033,10					3.269,85
39	3.237,69	3.494,66	2.345,02					
40	2.637,86							
Total	93.385,45	116.114,17	113.470,55	104.335,98	85.129,67	18.300,44	94.853,76	109.404,62
Média	2.334,64	2.977,29	2.909,50	2.819,89	2.660,30	2.614,35	2.710,11	2.879,07

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA, D. M. S. ; IMAI, R. S. ; HARARI, J. . Toxicidade da Água na Baía de Santos. In: Elisabeth de Santis Braga. (Org.). **Oceanografia e Mudanças Globais**. São Paulo: Instituto Oceanográfico da USP, p. 659-668, 2008.

ABESSA, D. M. S.; SOUSA, E. C. P. M.; TOMMASI, L. R. Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos. **Revista de Geologia**, v. 19 n. 2, p. 253-261, 2006.

ABESSA, D. M. S.; SOUSA, E. C. P. M.; RACHID, B. R. F.; MASTROTI, R. R. Toxicity of Sediments from Santos Estuary (SP, Brazil): Preliminary Results. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v. 4, n. 1, 2001.

ARAGÃO M. A.; ARAÚJO R. P. A. Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO P.A.; BERTOLETTI E. (org.). **Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, p. 117 – 152, 2008.

ARAÚJO, R. P. A.; SHIMIZU, G. Y.; BOHRER M.B.C.; JARDIM W. Avaliação da Qualidade de Sedimentos. In: ZAGATTO P.A.; BERTOLETTI E. (org.). **Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações**. 2 ed. São Carlos: Rima, p.293 – 326, 2008.

ARAÚJO, R. P. A. **Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos sedimentos de água doce do Estado de São Paulo**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. 2005.

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípoda de água doce *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. Tese de mestrado. Universidade de São Paulo. 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT NBR 15470). Ecotoxicologia aquática – Toxicidade em sedimento – Método de ensaio com *Hyalella* spp. (Amphipoda).2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (ABNT NBR 15469). *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Preservação e Preparo de Amostras*. 2007./ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT NBR 15411-2). *Ecotoxicologia aquática: Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente)*. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT NBR 13373). *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica - Método de Ensaio com *Ceriodaphnia spp* (CLADOCERA, CRUSTACEA)*. 15 p. 2005.

BARRETO, J. C. N. **Caracterização da toxicidade de efluentes de usina siderúrgica mediante bioensaios com microorganismos**. (Tese mestrado em Saúde Pública). Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BERTOLETTI, E.; BURATINI, S. V.; PROSPÉRI, V. A.; ARAÚJO, R. P. A.; WERNER, L. I. Selection of Relevant Effect Levels for Using Bioequivalence Hypothesis Testing. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. v. 2, n. 2, p 139-145, 2007.

BÍCEGO, M. C.; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G. T.; MONTONE, R. C.; SILVA, D. A. M.; LOURENÇO, R. A.; MARTINS, C. C.; SASAKI, S. T.; PELLIZARI, V. H.; WEBER, R. R. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 52, p. 1784-1832, 2006.

BOLDRINI, C. V.; EYSINK, G.G. J.; MARTINS, M.C.; LAMPARELLI, M.C. **Contaminantes na bacia do rio Cubatão e seus reflexos na biota aquática**. São Paulo: CETESB, Relatório Técnico, p. 81, 1990.

BORRELY, S. I. **Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação com feixe de elétrons, avaliada com as espécies *V.fischeri*, *D. similis* e *P. reticulata***. (Tese de doutorado em tecnologia nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BROOKS, B. W.; FORAN, C. M.; RICHARDS, S. M.; WESTON, J.; TURNER, P. K.; STANLEY, J. K.; SOLOMON, K. R.; SLATTERY, M.; LA POINT, T. W. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. **Toxicology Letters**, 142, p. 169 - 183, 2003.

BULICH, A. A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. **Process Biochemistry**, March/April, 45-47, 1992.

BURATINI, S. V. & BERTOLETTI, E. Análises Estatísticas. In: Zagatto, P. A. & Bertolotti, E. (org.). **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. São Carlos: Rima, p. 221-249, 2008.

BURTON Jr, G. A & MACPHERSON, C. Sediment Toxicity Testing Issues and Methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON Jr, G. A.; CAIRNS Jr, J. **Handbook of Ecotoxicology**. 1^a Ed. Lewis Publishers. 1995.

BURTON, Jr., G. A. Sediment collection and processing: factors affecting realism. **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, cap.10, p.213-240.1992.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIROMENTAL. “ Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Tables”. CCME 1999, update 2002. Canadian Sediment Quality Guidelines for the protection of Aquatic Life – Summary Tables.

CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; SANTOS, A. R.; ABESSA, D. M. S.; FERNÁNDEZ, N.; CHOUERI, R. B.; DELVALLS, T. A. Ecotoxicological Assessment of sediments from the Santos and São Vicente estuarine system – Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, 54(1):55-63, 2006.

CARMO, R. L.; SILVA, C. A. M. Gestão da água na Baixada Santista (São Paulo): temas e conflitos em um contexto metropolitano. In: **Dinâmica populacional e mudança ambiental: cenários para o desenvolvimento brasileiro**. Campinas: Núcleo de Estudos de População-Nepo/Unicamp, 2007.

CHAPMAN, P.M. Current approaches to developing sediment quality triad: an example. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, p. 589-599, 1989.

CIESP: PÓLO INDUSTRIAL DE CUBATÃO. **Relatório Anual**. Disponível em: <http://www.ciesp.com.br/cubatao/conteudo/relatorio2010-2011.pdf>. Acesso em: 06/01/2012 às 21:00h.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Qualidade de Sedimentos**. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 05/11/2011 às 16:30.2011.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas Interiores no estado de São Paulo 2011** / CETESB. São Paulo: CETESB, 2012.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas Interiores no estado de São Paulo 2010** / CETESB. São Paulo: CETESB, 2011.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2009 [recurso eletrônico] / CETESB, 2010.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas Interiores no estado de São Paulo 2008** / CETESB. São Paulo: CETESB, 2009.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas Interiores no estado de São Paulo 2007** / CETESB. São Paulo: CETESB, 2008.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Controle da poluição ambiental em Cubatão. Ação da CETESB em Cubatão: situação em janeiro de 1989**. São Paulo, 1989.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Avaliação da Toxicidade das Águas e Sedimentos dos Rios da Região de Cubatão**. São Paulo: CETESB, Relatório Técnico, 10p. 1983 a.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Ensaio Biológico com Água e Sedimentos da Represa Billings**. São Paulo: Relatório Técnico, 29p. 1983 b.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). “Legislação Estadual, **Prevenção e Controle da Poluição do Meio Ambiente**- Decreto nº 8.468, de 08 de SETEMBRO DE 1976”. São Paulo: 1976.

COPEBRÁS. Disponível em: <http://www.copebras.com.br/>. Acesso em: 12/11/2011 às 20:00h.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. CONAMA, 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - Resolução nº 344, de 25 de março de 2004. CONAMA, 2004.

COUTO, J. M. **Entre estatais e transnacionais: o pólo industrial de Cubatão**. Tese doutorado em Ciências Econômicas. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CURCHO, M. R. S. M. **Avaliação de micro e macroelementos, elementos tóxicos (Cd, Hg, e Pb) e ácidos graxos, em peixes disponíveis comercialmente para consumo em Cananéia e Cubatão, estado de São Paulo**. (Tese de mestrado em tecnologia nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

FAVARO, D. I. T., MOREIRA, S R D, MOREIRA, E.G, MAZZILLI, B P, CAMPAGNOLLI, F. Chemical Characterization and Recent Sedimentation Rates in Sediment Cores from Rio Grande Reservoir, São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**. , v.273, p.451 - 463, 2007.

FERREIRA, L. G. **A gestão ambiental do pólo industrial de Cubatão a partir do programa de controle da poluição iniciado em 1983: atores, instrumentos e indicadores**. Tese de mestrado em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FERREIRA, C. C.; TORRES, F. R.; BORGES, W. R. **Cubatão: Caminhos da história**. Cubatão, SP: Ed. do Autor, 2008.

FRANÇA, J. S.; MORENO, P.; CALLISTO, M. Importância da composição granulométrica para a comunidade bentônica e sua relação com o uso e ocupação do solo na Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas (MG). **VII Encontro Nacional de Engenharia de Sedimentos**. Porto Alegre, 2006.

GOMES, V. P.; AMARAL, C.; JÚNIOR, L. C. G. N.; CÉSAR, A.; ABESSA, D. M. S. Avaliação da contaminação por mercúrio nos sedimentos do estuário de Santos-SP, Brasil. **Revista Ceciliana** v. 1, n. 2, p. 29-33, 2009.

GONÇALVES, W. F. L. **Sazonalidade geoquímica em águas intersticiais, superficiais e sedimentos estuarinos de Cubatão (SP), impactados por atividades industriais**. (Tese de mestrado em geociências). Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 2009.

GRIFFITHS, R. P. The importance of measuring microbial enzymatic functions while assessing and predicting long-term anthropogenic perturbations. **Mar. Pollut. Bull.** 14, 162, 1983.

GUIMARÃES, G.M. **Avaliação da concentração de metais e elementos traço em amostras de sedimento do reservatório Guarapiranga, São Paulo-SP, Brasil.** (Tese de mestrado em tecnologia nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

GULLEY, D. **Toxstat 3.5.** West Inc. University of Wyoming. Cheyenne, Wyoming. 1996.

GUTBERLET, J. **Cubatão: desenvolvimento, exclusão social e degradação ambiental.** Ed. Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996.

INGERSOLL, C. G. Sediments Tests. In: RAND, G. M. **Fundamental of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment.** 2^a Ed. Taylor & Francis, p. 231-251. 1995.

INGERSOLL, C. G.; NELSON, M. K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (diptera). *Aquatic Toxicology and risk assessment.* v. 13, p. 93-109. 1990.

JHONSCHER-FORNASARO, G. & ZAGATTO, P.A. The use of benthonic community as a water quality indicator in Cubatão River Basin. **Water Sciency and Technology**, v. 19, n.11, p. 107-112, 1987.

KEMBLE, N. E.; BRUMBAUGH, W. G.; BRUNSON, E. L.; DWYER, F. J.; INGERSOLL, C. G.; MONDA, D. P.; WOODWARD, D. F. Toxicity of metal-contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana, to aquatic invertebrates and fish in laboratory exposures. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 13, N. 12, p. 1985-1997. USA, 1994.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S.G.; DURAN, N. Novas Tendências no Tratamento de Efluentes Têxteis. **Revista Química Nova**, v. 25, p.78-82, 2002.

LAMPARELLI, M.L.; COSTA, M. P.; PRÓSPERI, V. A.; BEVILÁQUA, J. E.; ARAÚJO, R. P. A. EYSINK, G. G. L.; POMPEIA, S. **Sistema Estuarino de Santos e São Vicente**. Relatório Técnico CETESB. São Paulo, 2001.

LARIZZATTI, F. E.; FAVARO, D. I. T.; MOREIRA, S. R. D.; MAZZILLI, B. P.; PIOVANO, E. L. – Multielemental Determination by Instrumental Neutron Activation Analysis and Recent Sedimentation Rates Using ^{210}Pb Dating Method at Laguna del Plata, Cordoba, Argentina. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 249, n.1, p.263-8, 2001.

LUIZ-SILVA,W.; MATOS, R. H. R.; KRISTOCH, G. C.; MACHADO, W. Variabilidade espacial e sazonal da concentração de elementos-traço em sedimentos do sistema estuarino Santos-Cubatão. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 256-263, 2006.

LUIZ-SILVA,W. Geoquímica e índice de geoacumulação de mercúrio em sedimentos de superfície do estuário Santos-Cubatão (SP). **Química Nova**, v. 25, n.5, p. 753-756, 2002.

MAGALHÃES, D. P. & FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MESQUITA, L. C. A. **Avaliação ecotoxicológica e caracterização química em águas superficiais do rio Cubatão, SP**. (Tese de mestrado em tecnologia nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

MOREIRA, L.B.; CESAR, A.; CORTEZ, F. S.; PEREIRA, C. D. S.; MORAIS, R. D. Toxicidade nos rios Cubatão e Quilombo, Cubatão (SP). *Revista Ceciliana*, ISSN 1517-6363, Nº. 30, págs. 31-44. 2008.

MOZETO, A.A.; UMBUZEIRO, G.A.; JARDIM, W.F. **Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce**. São Carlos, 2006.

NOVO MILÊNIO. Disponível em: <http://www.novomilenio.inf.br/>. Acesso em: 29/11/2011 às 22:00h.

PETROBRÁS. Disponível em: www.petrobras.com.br/. Acesso em: 03/12/2011 às 19:00h.

PIVELI, R. P.; KATO, M. T. **Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos**. 1ed. São Paulo: ABES, 2005.

PRÓSPERI, V. A. **Comparação de métodos ecotoxicológicos na avaliação de sedimentos marinhos e estuarinos**. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2002.

PRÓSPERI, V.; EYSINK, G.G.J.; SAITO, L.M. Avaliação do grau de contaminação do sedimento ao longo do canal de navegação do porto de Santos. Relatório Técnico CETESB. São Paulo. 33p. 1998.

POWER, E.A.; CHAPMAN, P. M. **Assessing Sediment Quality**. Apud: **BURTON, Jr., G. A. (Ed) Sediment Toxicity Assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, Cap 1, p. 1-18, 1992.

PUSCEDDU, F. H.; ALEGRE, G. F.; PEREIRA, C. D. S.; CESAR, A. Avaliação da Toxicidade do Sedimento do Complexo Estuarino de Santos Empregando Ouriços-do-mar *Lytechinus variegatus* (Echinoidea: Echinodermata). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, n. 3, 237-242. 2007.

RAMOS, M. G. M. **Determinação dos teores de metais pesados em plantas típicas dos mangues do Rio Cubatão, SP**. Tese de mestrado em Saúde Coletiva. Universidade Católica de Santos. 2005.

RAND, G. M. **Fundamental of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. 2ª Ed. Taylor & Francis, 1995./ROCHA, P. S.; LUVIZOTTO, G.L.; KOSMEHL, T.; BOTTCHEER, M.; STORCH, V.; BRAUNBECK, T.; HOLLERT, H. Sediment genotoxicity in the Tietê River (São Paulo, Brazil): *In vitro* comet assay versus *in situ* micronucleus assay studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, doi:10.1016/j.ecoenv.2009.04.013. 2009.

ROMANELLI, M. F. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixe de elétrons.** (Tese de mestrado em tecnologia nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SERIANI, R.; PINNA, F. V.; ABESSA, D. M. S.; MAGINI, C.; ROMANO, P.; SILVEIRA, F. L. Using bioassays and benthic community to evaluate the sediment quality at the estuary of Itanhaém river, sp, Brazil. **O Mundo da Saúde**, v. 32, n. 3, p. 294-301, 2008.

SILVA, P. S. C.; MAZZILLI, B. P.; FÁVARO, D. I. T. Distribution of radionuclides and elements in Cubatão River sediments. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 269, n.3, p. 767-771, 2006.

SIQUEIRA, G. W.; BRAGA, E. S.; PEREIRA, S. F. P.; SILVA, E. Distribuição do mercúrio em sedimentos de fundo no Estuário de Santos – SP/Brasil. **Esc. Minas**, Ouro Preto, 50(4): 309-316. 2005.

TAYLOR, S. R. & MCLENNAN, S. M. **The Continental Crust: Its Composition and Evolution.** Oxford, London: Blackwell Scientific, ISBN 0 632 01148 3, 1985.

UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F.; ROUBICEK, D. A.; TOMINAGA, M. Y. Evaluation of the water genotoxicity from Santos Estuary (Brazil) in relation to the sediment contamination and effluent discharges. *Environment International* 32, p. 359 – 364. 2006.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates.** 2. Ed. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA- 600/R-99/064. MARCH 2000.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(4): 779-785, out.-dez. 2007.

WEDEPOHL, K. H. The composition of the continental crust. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 59, n. 7, p. 1217-1232, 1995.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática** – princípios e aplicações. 2 ed. São Carlos: Rima, 2008.

ZAGATTO, P.A.; GUERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; LOMBARDI, C.C.; MARTINS, M.H.R.B.; RAMOS, M.L.L.C. Bioassay with aquatic organism: toxicity of water and sediment from Cubatão River Basin. *Water Science and Technology*, v.19, n. 11, p. 95-106, 1987.

ZAMBONI, A. **Avaliação da qualidade de água e sedimentos do Canal de São Sebastião através de testes de toxicidade com *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea)**. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos (USP). São Carlos, 1993.

ZANGRANDE, C. M.; SANT' ANNA, B. S.; REIGADA, A. L. D. Distribuição de *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818), (decapoda, brachyura), no complexo Baía- Estuário de São Vicente, (SP), Brasil. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 29(2), p. 133 - 138, 2003.