UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

NATHALIA CASTRO E SILVA

Estudo ambiental de trecho paulista do rio Paraíba do Sul através
de caracterização, avaliação toxicológica e análise de metais
biodisponíveis em amostras de sedimento: cenário e perspectivas

Lorena – SP

2017

NATHALIA CASTRO E SILVA

Estudo ambiental de trecho paulista do rio Paraíba do Sul através
de caracterização, avaliação toxicológica e análise de metais
biodisponíveis em amostras de sedimento: cenário e perspectivas

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia
de Lorena da Universidade de São Paulo para
obtenção de título de Mestre em Ciências do
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Industrial na área de concentração de
Conversão de Biomassa.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Teixeira da Silva

Edição reimpressa e corrigida

Lorena - SP

Outubro, 2017

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

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva, Nathalia Castro e

Estudo ambiental de trecho paulista do rio Paraíba do Sul através de caracterização, avaliação toxicológica e análise de metais biodisponíveis em amostras de sedimento: cenário e perspectivas / Nathalia Castro e Silva; orientador Flávio Teixeira da Silva - ed. reimp., corr. - Lorena, 2017.

94 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2017
Orientador: Flávio Teixeira da Silva

1. Rio paraíba do sul. 2. Sedimento. 3. Chironomus xanthus. 4. Meio ambiente. 5. Metais. I. Título. II. Silva, Flávio Teixeira da, orient.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente meus agradecimentos devem ser dirigidos a Deus. Sua onipresença e onipotência me fizeram forte em todo o período deste estudo. Rei dos reis, Pai de todos os seres e conhecedor de todos os nossos desafios internos. Transmissor da sabedoria plena e mais justo que qualquer juiz terreno, foi o que me guiou e me ensinou a passar por esse período em equilíbrio e harmonia para adiante caminhar. A Ele meu sincero e puro sentimento de gratidão!

Ao Professor Dr. Flávio Teixeira da Silva, meu orientador, pela oportunidade de aprendizado que me concedeu, tanto do ponto de vista do conhecimento quanto do ponto de vista da evolução pessoal. Um aprendizado muito grande que carregarei e serei eternamente grata.

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado. E ao FEHIDRO pelos recursos financeiros!

A todos os colegas e companheiros de trabalho. À Lucinha, grande mulher, amiga, mãe, avó, orientadora e profissional; sua atenção, suporte e conhecimento foram fundamentais para a conclusão deste estudo. Ao Cleber, por ter sido guia e braço direito nas coletas das amostras ambientais e por toda conversa filosófica que se dispunha a refletir com o grupo no laboratório. Ao Luiz, doutorando exemplo, o qual eu tive o prazer de tê-lo como contemporâneo no grupo de pesquisa. As mestras Kelen, Rossana e Paula por terem sido companheiras de sala de estudo quando iniciei meu projeto. Aos doutorandos João Tavares, Douglas, Gabriela e Juliana pela parceria. Ao Daniel, por sua disponibilidade em ajudar sempre, pelas dicas e pelo suporte nas análises estatísticas. Ao sábio e humilde Lucas, que tendo a pesquisa como um verdadeiro propósito em sua vida, transmite muito conhecimento e segue sendo um exemplo para comunidade acadêmica. As pós-doutorandas Patrícia e Fernanda pelos ensinamentos maduros. A todos os alunos de iniciação científica Karine, Túlio, Karolina, Carolina Wolfring, Carolina Marques, Paula, Felipe, Amanda Menardo, Larissa, Raphael e Bruna, que trabalharam conosco no laboratório, os quais eu tive a feliz oportunidade de conhecer e são tão importantes para nosso trabalho e a alegria do grupo. Agradeço especialmente as minhas alunas de iniciação científica da Engenharia Ambiental Amanda Melo, Brenda e Maria Luiza, que foram essenciais para o caminhar deste estudo. À Manu, do IQ –Unicamp, por sua disponibilidade em ajudar nas análises do ICP.

Aos motoristas, secretários e técnicos sempre disponíveis para ajudar.

Aos lindíssimos funcionários da limpeza que sempre respondiam ao meu “bom dia” com sorrisos maravilhosos!

A Professora Maria Auxiliadora (Dodora), não só pelo suporte que deu a mim, mas por ser uma peça fundamental para a Escola de Engenharia de Lorena (EEL), seu carinho e amor pelo ensino faz das suas aulas/conversas algo maior, transmite boas e positivas sugestões ao, automaticamente, tornar nossos ouvidos sensíveis para receber instruções, sua presença transforma a universidade. Que ela permaneça na Escola por muitos anos!

Aos Professores Ângelo Capri e Maria da Rosa Capri, pelo acolhimento e ensinamentos no estágio a docência.

Aos verdadeiros amigos que fiz durante o tempo de mestrado, o jovem Daniel, o intercambista Paulo, a Marina, a Eduarda, o Bruno Pardal, a Sidnéa e o sábio Caly. Como em todas as fases, algumas pessoas aparecem com um propósito maior em nossas vidas e esses tocaram meu coração, ensinaram-me e ainda me ensinarão muita coisa boa – relações que fazem parte da universidade da vida.

A república Casa da Mãe Joana e a todas as meninas que ali me acolheram, foram únicos os momentos que passamos na casa.

A todos os colegas amantes do esporte que foram companheiros do pedal, da natação, da corrida, do slackline e da sagrada yoga.

A minha família, mãe, pai e irmão; aos meus pais Nely e Nelton pela confiança que depositaram em minha escolha por ingressar no mestrado, pelo apoio e incentivo. Pelo carinho e amor incondicional que são indispensáveis no rumo da vida. Amo vocês!

Ao Danniell, companheiro, amigo e amante, a quem desejo felicidade acima de tudo. Sem sua parceria nada aconteceria. Uma pessoa maravilhosa que foi uma ferramenta indispensável para minha evolução e compreensão do amor, aquele denominado incondicional.

**“Morrer para o mundo, sem morrer:
Eis o objetivo Supremo da vida humana.”**

(Paramahansa Yogananda)

RESUMO

SILVA, N. C. **Estudo ambiental de trecho paulista do rio Paraíba do Sul através de caracterização, avaliação toxicológica e análise de metais biodisponíveis em amostras de sedimento: cenário e perspectivas.** 2017. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017.

Frente ao cenário ambiental observado no Brasil e a uma crescente preocupação com os problemas de poluição, amostras de sedimento do rio Paraíba do Sul foram caracterizadas para levantamento de dados que permitam inferir a qualidade do rio e da região como um todo, visto que esta matriz desempenha papel fundamental na qualidade da água e acumula contaminantes ao longo do tempo, gerando maior número de informações. O rio Paraíba do Sul é considerado um dos mananciais mais importantes da região sudeste, uma vez que está localizado entre as duas maiores capitais brasileiras: São Paulo e Rio de Janeiro. A qualidade dos sedimentos deste manancial encontra-se bastante comprometida devido ao desmatamento, mau uso e ocupação do solo em áreas urbanas e rurais, uso de insumos agrícolas e pelo lançamento diário de alta carga de efluentes domésticos. Esta situação é agravada pelo baixo índice de tratamento dos efluentes lançados na bacia do Rio Paraíba do Sul. O descarte de efluentes, ricos em nutrientes como fósforo e nitrogênio, pode contribuir diretamente no processo de eutrofização. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características do sedimento no trecho paulista do rio Paraíba do Sul, entre os municípios de Lorena, Cachoeira Paulista e Cruzeiro através da determinação e análise dos parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos das amostras, além de determinar a ocorrência de metais potencialmente biodisponíveis. As coletas de sedimento foram realizadas a montante e a jusante do rio em cada município nos meses de agosto/16 (estação seca) e novembro/16 (estação chuvosa). Os parâmetros avaliados para sedimento foram granulometria, teor de silte e argila, matéria orgânica, carbono orgânico total, fósforo total, nitrogênio total por métodos convencionais e metais (Mn, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb) por ICP-OES, além de bioensaios de toxicidade crônica utilizando a espécie *Chironomus xanthus*. Para água intersticial foram determinados pH, condutividade e oxigênio dissolvido. As coletas foram efetuadas em triplicata e foram calculados a média e o desvio padrão das amostras para cada parâmetro. Os resultados foram estatisticamente analisados através dos Componentes Principais (ACP), Correlação de Spearman e Grupamento de Cluster. Os resultados mostraram correlação positiva na estação seca entre a condutividade e a concentração de Mn e Fe. pH, a condutividade e a concentração de Mn tiveram forte correlação positiva na estação chuvosa. Fósforo total e nitrogênio kjeldhal total mostraram-se abaixo do valor alerta de acordo com o estabelecido pela resolução CONAMA 344/04. Os resultados demonstraram que a precipitação influenciou nas características das amostras de sedimento, como na granulometria e teores de matéria orgânica (silte + argila). Uma maior disparidade do ponto a jusante de Cruzeiro em relação aos outros pontos pode estar associada à presença de indústrias na região da cidade, cujos resíduos contêm alta concentração de metais. O planejamento fatorial 2^3 feito para otimizar as condições de cultivo do *C. xanthus* mostrou que dentre os dois níveis para as variáveis temperatura, dias de alimentação e água (com e sem tratamento) mostrou que a água foi o efeito significativo, com índice de mortalidade menor quando se utilizou água da mina sem tratamento preliminar. Os resultados dos bioensaios de toxicidade crônica não apresentaram efeito tóxico para o *C. xanthus*, a nível de 95% de confiança. Os resultados sugerem que os sedimentos no trecho estudado estão dentro das especificações preconizadas pela legislação ambiental.

Palavras-chave: Rio Paraíba do Sul. Sedimento. *Chironomus xanthus*. Meio ambiente. Metais.

ABSTRACT

SILVA, N. C. **Environmental study of the São Paulo section of the Paraíba do Sul river through characterization, toxicological evaluation and analysis of bioavailable metals in sediment samples:** scenario and perspectives. 2017. 91 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017.

Considering the environmental scenario observed in Brazil and increasing concern to pollution problems, sediment samples from the Paraíba do Sul river were characterized for data collection that allow to infer a quality of the river and the region as a whole, since this matrix plays a role water quality and accumulates contaminants over time, generating more information. The Paraíba do Sul river is considered one of the most important springs of the Southeast region, since it is located between the two largest Brazilian capitals: São Paulo and Rio de Janeiro. The quality of the sediments of this source is very compromised due to the deforestation, misuse and occupation of the soil in urban and rural areas, use of agricultural inputs and the daily launch of high domestic effluent load. This situation is aggravated by the low treatment rate of effluent released in the Paraíba do Sul River Basin. Discharge of effluents, rich in nutrients such as phosphorus and nitrogen, can directly contribute to the eutrophication process. The objective of this work was to evaluate the characteristics of the sediment in the São Paulo stretch of the Paraíba do Sul river, between the municipalities of Lorena, Cachoeira Paulista and Cruzeiro, through the determination and analysis of the physicochemical and ecotoxicological parameters of the samples, besides determining the occurrence of Potentially bioavailable metals. Sediment collections were carried out upstream and downstream of the river in each municipality in the months of August / 16 (dry season) and November / 16 (rainy season). The standard values of nitrogen by conventional methods and metals (Mn, Fe, Ni, Cu, Zn and Pb) by ICP-OES, in addition to a total of total nitrogen, by conventional methods and metals. From chronic toxicity bioassays using a *Chironomus xanthus* species. For interstitial water, pH, conductivity and dissolved oxygen were determined. The samples were collected in triplicate and the mean and standard samples were calculated for each parameter. The results were statistically analyzed through the Principal Components (PCA), Spearman Correlation and Cluster Grouping. The results show a positive correlation in the dry season between a conductivity and a concentration of Mn and Fe. pH, a conductivity and a concentration of Mn had a strong positive correlation in the rainy season. Total phosphorus and total Kjeldhal nitrogen were below the alert value according to CONAMA Resolution 344/04. The results showed that the precipitation influenced the characteristics of sediment samples, such as grain size and organic matter content (silt + clay). A greater disparity of the downstream point of Cruzeiro in relation to other points may be associated with the presence of the industries in the region of the city, whose residues contain high concentration of metals. The factorial design 2^3 did to optimize as *C. xanthus* culture conditions showed that among the two levels for the variables temperature, daily feed and water (with and without treatment) showed that water was the significant effect, with mortality index Minor when using mine water without preliminary treatment. The results of the chronic toxicity bioassays showed no toxic effect for *C. xanthus* at 95% confidence. The results suggest that the sediments in the studied section are within the specifications recommended by the environmental legislation.

Keywords: Paraíba do Sul River. Sediment. *Chironomus xanthus*. Environment. Metals.

Lista de Figuras

Figura 1 – Localização da bacia do rio Paraíba do Sul	19
Figura 2 – Bacia por Estado	20
Figura 3 – Limitações municipais da bacia no estado de São Paulo	22
Figura 4 – Rotas de exposição de organismos a contaminantes para exposição em água somente (esquerda) e em sedimentos (direita)	29
Figura 5 – Draga utilizada nas amostragens	37
Figura 6 – Registros fotográficos das localizações onde as coletas foram realizadas, desde Lorena montante (LM) até Cruzeiro Jusante (CJ)	38
Figura 7 – Trecho de amostragem (aproximadamente 41 km de extensão) com 6 pontos de coleta.....	39
Figura 8 – Organograma simples representando as análises as quais as amostras foram submetidas	40
Figura 9 – Conjunto de peneiras utilizado na análise granulométrica.....	42
Figura 10 – Peneira retendo partículas maiores(mesh 9)	43
Figura 11 – Fundo do conjunto de peneiras retendo sedimento pulverizado (mesh 200)	43
Figura 12 – Varredura de comprimento de onda – tela do espectrofotômetro Halo DB – 20 da marca Dynamica	45
Figura 13 - Curva de calibração para determinação espectrofotométrica da concentração de P total	46
Figura 14 – Processo de digestão no bloco digestor para determinação de N total (método Kjeldahl), sendo a numeração 1 uma imagem logo após a adição do ácido sulfúrico concentrado e a numeração 9 a etapa da digestão finalizada	49
Figura 15 – Imagem do equipamento ICP OES com aproximação na câmara de nebulização.....	51
Figura 16 – Coleta de água da mina localizada próxima a uma nascente do município de Piquete – SP.....	53
Figura 17 – Cultivo de <i>Chironomus xanthus</i> no laboratório de Ecotoxicologia da EEL - USP	54
Figura 18 – Teste de sensibilidade em andamento na bancada da sala especial de cultivo (02/2016)	56
Figura 19 – Teste de sensibilidade em andamento em incubadora a 23°C (02/2016)	56

Figura 20 – Ilustração do bioensaio. Recipientes plásticos com amostra de sedimento, 10 organismos por recipiente e água de cultivo sob aeração em incubadora a 23°C	58
Figura 21 – Valores de pH de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), determinados a partir de sonda multiparamétrica.....	60
Figura 22 – Valores de condutividade de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), determinados a partir de sonda multiparamétrica	61
Figura 23 – Concentração de oxigênio dissolvido de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), entre as cidades de Lorena e Cruzeiro, determinados a partir de oxímetro	62
Figura 24 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Lorena nas estações seca e chuvosa.....	63
Figura 25 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Cachoeira Paulista nas estações seca e chuvosa ...	64
Figura 26 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Cruzeiro nas estações seca e chuvosa	64
Figura 27 – Teores de S + A de amostras de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas nas estações seca e chuvosa e determinados por meio de peneiramento e pesagem.....	65
Figura 28 – Teores de MO determinados por diferença de massa antes e após incineração em mufla	67
Figura 29 – Teor de COT determinado por incineração	67
Figura 30 – Resultados obtidos da análise de P total através de leituras espectrofotométricas e posterior conversão para unidades adequadas (Equação 3)	68
Figura 31 – Resultados obtidos da análise de N total através do método de kjeldhal nas amostras de sedimento coletadas em estação seca e chuvosa nos 6 pontos estudados de trecho paulista do rio Paraíba do Sul	69
Figura 32 – Proporções de metais (em mg . kg ⁻¹), obtidas por ICP-OES, nas amostras de sedimento coletadas em estação seca e chuvosa nos 6 pontos estudados de trecho paulista do rio Paraíba do Sul.....	71
Figura 33 – Inseto da espécie <i>Chironomus xanthus</i>	72
Figura 34 – Diagrama de Pareto obtido a partir do planejamento fatorial 2 ³ com 3 variáveis a fim de determinar.	75

Figura 35 – Resultado exemplo (CE50) obtido para teste de sensibilidade dos organismos <i>C. xanthus</i>	76
Figura 36 – Carta controle da sensibilidade de <i>C. xanthus</i> ao KCl g.L ⁻¹ contendo limites superior e inferior do intervalo de confiança e a média acumulada	76
Figura 37 – Imagem de microscópio modelo Q763ZT da QUIMIS: fotografia do organismo em estágio larval encontrado na amostra de sedimento a jusante de Cachoeira Paulista (novembro 2016)	77
Figura 38 – Ordenação com base na Análise de Componentes Principais (ACP) de correlação de variáveis de amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul, em 3 cidades, Lorena (L), Cachoeira Paulista (CP) e Cruzeiro (C), sendo que os prefixos numéricos 1 e 2 usados nas siglas dos pontos se referem às estações seca e chuvosa, respectivamente	78
Figura 39 – Representação, na forma de dendograma, da Similaridade de Bray Curtis (%) obtido a partir das variáveis analisadas nas amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul coletadas em estação seca (prefixo1) e estação chuvosa (prefixo 2), entre os pontos de coleta	82

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação das frações limites para partículas sólidas de acordo com a ABNT 30	
Tabela 2 – Critérios de classificação granulométrica das peneiras	42
Tabela 3 – Média, desvio padrão e DPR de 3 coeficientes angulares de curvas de calibração de P total.....	46
Tabela 4 – Alíquotas para preparo da desenvolvedora de cor solução	48
Tabela 5 – Rampa utilizada no bloco digestor para digestão de amostras de sedimento na determinação das concentrações de N total Kjeldahl.....	48
Tabela 6 – Programa utilizado no forno de micro-ondas para digestão de amostras de sedimento e materiais de referência certificados	50
Tabela 7 – Matriz de planejamento 2 ³ para otimizar o cultivo de <i>Chironomus xanthus</i>	57
Tabela 8 – Valores de referência para metais totais para sedimento	70
Tabela 9 – Matriz com o resultado dos ensaios 2 ³ realizados no laboratório de ecotoxicologia da EEL para otimizar o cultivo e resultados quanto a mortalidade de <i>C. xanthus</i>	74
Tabela 10 – Matriz dos coeficientes das variáveis físico-químicas de cada CP e contribuição de cada eixo na explicação do arranjo formado na ACP com base na matriz de correlações das variáveis físico-químicas de amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul nas estações seca e chuvosa	79
Tabela 11 – Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis do rio Paraíba do Sul para a estação seca com correlações significativas em nível de 95% de confiança ($p < 0,05$) 80	
Tabela 12 – Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis do rio Paraíba do Sul para a estação chuvosa com correlações significativas em nível de 95% de confiança ($p < 0,05$)	81

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul	19
2.2	Importância dos sedimentos.....	23
2.3	Biodisponibilidade de metais	32
2.4	Avaliação ecotoxicológica de sedimento	34
3	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivos específicos	35
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1	Reagentes	36
4.2	Amostragem.....	36
4.2.1	Pontos de coleta.....	37
4.3	Análises estatísticas	39
5	METODOLOGIA	40
5.1	Caracterização das amostras de sedimento	40
5.1.1	Águas intersticiais	41
5.1.2	Granulometria.....	41
5.1.3	Teor de matéria orgânica	43
5.1.4	Teor de carbono orgânico total.....	44
5.1.5	Fósforo total (P total).....	45
5.1.5.1	Solução desenvolvedora de cor.....	47
5.1.6	Nitrogênio total (N total)	48
5.2	Determinação de metais no sedimento	50
5.3	Avaliação do efeito tóxico do sedimento.....	52
5.3.1	Coleta e tratamento da água utilizada no cultivo da espécie <i>Chironomus xanthus</i>	

5.3.2	Cultivo dos organismos.....	54
5.3.3	Testes de sensibilidade.....	55
5.3.3.1	Otimização do cultivo dos organismos <i>Chironomus xanthus</i>	56
5.3.4	Análise do efeito tóxico crônico com <i>Chironomus xanthus</i>	58
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.1	Caracterização das amostras de sedimento	59
6.1.1	Águas intersticiais	59
6.1.2	Granulometria do sedimento	63
6.1.3	Caracterização da fração S +A.....	66
6.1.3.1	Teor de matéria orgânica (%MO) e de carbono orgânico total (%COT) presentes na fração de S + A dos sedimentos amostrados	66
6.1.3.2	Fósforo total (P total)	68
6.1.3.3	Nitrogênio total (N total).....	69
6.1.3.4	Determinação dos metais biodisponíveis no sedimento.....	70
6.2	Avaliação do efeito tóxico crônico dos sedimentos usando <i>Chironomus xanthus</i>	72
6.2.1	Otimização do cultivo dos organismos <i>Chironomus xanthus</i> e testes de sensibilidade	73
6.2.2	Análise do efeito tóxico crônico com <i>Chironomus xanthus</i>	77
7	CORRELAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	78
8	CONSIDERAÇÕES	84
9	CONCLUSÃO.....	85
	Referências.....	86
	Anexo	94

1 INTRODUÇÃO

Meio ambiente e poluição têm sido uma temática bastante pertinente nos últimos anos e vem ganhando espaço midiático. Alguns episódios já acontecem no Brasil, como por exemplo explosões em aterros sanitários, um em 2014 que resultou em óbito de um escavador, e outro em 2017, ambos no estado de Minas Gerais. O gás metano produzido pelos resíduos do aterro, quando em contato com o ar pode se tornar uma mistura de alto teor inflamável. Outro exemplo foi o que ocorreu em 2015 na cidade de Mariana – MG. Houve um rompimento da barragem da represa de uma mineradora e deslizamento acentuado de lama tóxica em grande extensão, chegando ao Oceano Atlântico. O ocorrido causou um potencial dano ambiental, desavenças políticas, danos à economia local e comprometeu várias vidas. Esse último episódio foi foco de estudo para a comunidade científica da região sudeste do Brasil e membros de universidades do exterior (FERNANDES et al., 2016; SEGURA et al., 2016).

O rio Paraíba do Sul também apresenta histórico de acidente ambiental. Em 2008, a porção do rio que passava pela cidade de Resende (RJ) foi atingida por produto tóxico, consequência de vazamento de empresa local. Além do dreno instalado indevidamente, a empresa armazenava resíduos de pesticida de forma inadequada, segundo relatos de vistoria. O despejo acidental de produto tóxico usado na fabricação de pesticida acabou provocando mortandade de peixes (SOUZA; BASTOS, 2008).

O sistema cultural está estacionado numa Era em que os seres humanos permanecem inconscientes da estrutura insustentável que estão alimentando no planeta. Somos, por consequência, responsáveis por inúmeros danos ambientais. É uma cultura tão presa ao lucro que resulta em muitas dificuldades para equilibrar o ecossistema como um todo.

A acelerada degradação dos recursos naturais compromete a qualidade de vida das atuais e futuras gerações e, por outro lado, leva a sociedade a buscar modelos alternativos que harmonizem o desenvolvimento econômico com a indispensável proteção do meio ambiente.

A crescente preferência dos consumidores por produtos considerados menos agressivos ao meio ambiente impõe um desafio ao setor produtivo, influenciando fortemente na competitividade das empresas.

O que se apresenta neste novo cenário é um indicativo de que a proteção ambiental está deixando de ser considerada responsabilidade exclusiva dos órgãos oficiais de meio ambiente, passando a ser compartilhada por todos os setores da sociedade (DIAS; PEREIRA;

BRASIL, 1999)

A eutrofização de corpos aquáticos ou corpos hídricos, por exemplo, é um fenômeno que se tornou um problema ambiental global que coloca uma série de ameaças ao ecossistema aquático, gerando com frequência verdadeiras florestas prejudiciais de algas, consequente mortandade de peixes, problemas de sabor, odor e restrição do abastecimento de água potável. O fósforo foi identificado como o elemento crucial responsável pela eutrofização de água doce e pela ocorrência de florescimento de algas (YU et al., 2017).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul

A bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul (Figura 1) conta com a mais densa rede de monitoramento hidrológico do país. Isto se deve muito à sua localização entre os mais importantes centros econômicos: São Paulo, Rio de Janeiro e trecho do sul de Minas Gerais. A administração desta rede é feita por órgãos federais, setoriais, estaduais e particulares, que enviam os dados coletados (consolidados e consistidos) para a Agência Nacional das Águas (ANA), que assegura que estes dados sejam efetivamente armazenados, processados, interpretados e difundidos entre todos os segmentos interessados (COHIDRO, 2013).

Figura 1 – Localização da bacia do rio Paraíba do Sul

Fonte: AGEVAP (2006)

O rio Paraíba do Sul é um importante rio da região Sudeste do Brasil. A região sudeste compreende os estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, totalizando uma área de 924.511 km². O Rio Paraíba do Sul estende-se por três dos quatro estados da região. Sua nascente fica na Serra da Bocaina (estado de São Paulo) e sua foz (local em que um corpo d'água fluyente deságua em outro corpo d'água) no Oceano Atlântico

(cidade de São João da Barra, norte do estado do Rio de Janeiro). Ele é formado pela confluência, na cidade de Paraibuna, dos rios Paraitinga (nascente em São José do Barreiro) e Paraibuna (nascente em Cunha). Possui uma área de drenagem de cerca de 56.000 km²: 13.900 km² em São Paulo; 20.700 km² em Minas Gerais; 20.900 km² no Rio de Janeiro. A bacia do rio Paraíba do Sul apresenta sua história intimamente ligada com o estabelecimento e crescimento de parques industriais e cidades ao longo dos anos (AGEVAP, 2006; IPT, 2012; MIGUENS et al., 2016). A Figura 2 mostra o mapa da bacia e suas fronteiras estaduais. Apresenta um comprimento de mais de 1100 km da nascente até o seu deságue no norte fluminense (AGEVAP, 2014).

Figura 2 – Bacia por Estado

Fonte: CEIVAP (2016)

A fim de facilitar o tratamento dos dados existe uma subdivisão conhecida como sub-bacias ou sub-compartimentos. Essa divisão pode ser feita diferenciando-se os sub-compartimentos através de relevo, paisagem, monitoramentos ou sedes municipais por recortes geográficos como mais comumente utilizado.

Segundo a AGEVAP o relevo da região da bacia é muito acidentado, com destaque ao Pico das Agulhas Negras, localizado no Maciço de Itatiaia, com 2.787m de altitude.

A Região Sudeste, de maneira geral, é caracterizada por diversificação climática e por apresentar predominantemente clima tropical quente e úmido, apresentando variações determinadas pelas diferenças de altitude e entradas de ventos marinhos (AGEVAP, 2014).

Quanto aos usos existentes para as águas do rio Paraíba do Sul se encontram: geração de energia elétrica; abastecimento urbano; diluição de esgotos urbanos, resíduos industriais e agrícolas e irrigação, entre outros (IPT, 2012). Além de suas águas abastecerem a agricultura e a indústria, são usadas para consumo humano (mais de 20 milhões de pessoas), incluindo a cidade do Rio de Janeiro. Esta água tem como principal fonte o sistema de transposição Paraíba do Sul/ Guandu (aproximadamente $60 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), (MIGUENS et al., 2016).

Ao todo, de acordo com o Relatório de Diagnóstico – RP – 06, Tomo III, de dezembro de 2014 (COHIDRO, 2014), a bacia possui 1.499 estações hidrometeorológicas já instaladas compreendendo a rede de monitoramento da qualidade e quantidade das águas, sendo 807 fluviométricas com apenas 315 em operação e 692 pluviométricas com 367 em operação. Entretanto, quanto aos sedimentos não há diagnóstico significativo ou representativo da situação.

Observa-se, nitidamente, que o rio sofre alteração na qualidade de suas águas. A poluição em vários trechos da bacia leva à contaminação de sua comunidade. Atualmente, as principais fontes de poluição do rio Paraíba do Sul são os esgotos domésticos e industriais, sendo a primeira a maior contribuinte, uma vez que os sistemas municipais de tratamento de esgoto, quando existentes, são ineficientes. Segundo informações disponibilizadas pela CEIVAP (Comitê de Integração da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul) e SNIS (Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento), dos 39 municípios (Figura 3) da porção paulista da bacia, 35 apresentam plano de saneamento básico com índices de atendimento total de água e atendimento total de esgoto iguais a 82,14% e 68,68%, respectivamente, e índice de tratamento de esgoto igual a 64,92%. Os municípios de Areias, Cunha, Potim, Santa Isabel e São José do Barreiro não têm informações para os valores dos índices, ou seja, os valores compreendem somente informações de 30 municípios (dados de 2013).

Figura 3 – Limitações municipais da bacia no estado de São Paulo

Fonte: CEIVAP (2016)

Quanto a possíveis fontes industriais, a Agevap (2006) salienta que o parque industrial instalado na bacia é expressivo no contexto nacional e está estabelecido, principalmente, ao longo do eixo Rio de Janeiro-São Paulo, no médio Paraíba, e ainda na área de influência do município de Juiz de Fora, no trecho mineiro, representando, potencialmente, significativa fonte de poluição hídrica.

No trecho paulista da bacia do Paraíba do Sul existem mais de 2.500 indústrias registradas na CETESB. Embora a maior parte seja de pequena importância em termos de lançamento de contaminantes no ambiente e da produção de resíduos sólidos tóxicos, é expressivo o número de indústrias de grande porte e alto potencial poluidor.

Por força da atuação da CETESB, o grave problema de disposição, na bacia, de resíduos classes I e II encontra-se praticamente equacionado, muito embora a bacia receba apreciável quantidade de resíduos de outras regiões do Estado para disposição em seus aterros industriais ou mesmo para serem processados/reciclados em instalações situadas na bacia.

Existem, no trecho paulista da bacia, dois aterros industriais: um é o da SASA, Sistemas Ambientais Ltda., localizado no município de Tremembé, e o outro o da Ecosistema Gerenciamento de Resíduos S/A, no município de São José dos Campos. A quantidade média de resíduos classes I e II dispostos nesses aterros, oriunda exclusivamente das indústrias

situadas na bacia, apresentam um valor total de 10.162 t/ano para a classe I e 170.378 para a classe II.

Segundo a Agevap (2206), em sua avaliação quanto a disposição final de resíduos urbanos sólidos na bacia do rio Paraíba do Sul, supõe que a produção atual de resíduos sólidos de saúde ou lixo patogênico seja pouco inferior a 1300 toneladas por ano.

Tomando o valor do índice de tratamento de esgoto e tendo em vista que o estado apresenta uma densidade demográfica de 13.474,47 hab/km², juntamente com os pareceres da Agevap quanto a agentes poluidores na bacia é evidente que a população que compõe a região da bacia fica sujeita à exposição de componentes considerados patogênicos.

O Rio Paraíba do Sul é considerado um dos ecossistemas mais importantes tanto do ponto de vista social como econômico no sudeste do Brasil.

2.2 Importância dos sedimentos

Quando se discute sobre um rio de maneira geral, a atenção está voltada para o curso d'água que o compõe, suas funcionalidades para a vida humana nos âmbitos industrial, doméstico ou da agricultura ou, então, fala-se sobre o potencial de poluição existente nas regiões abrangentes, como as informações do rio Paraíba do Sul acima elencadas. Diante disso, existem muitos estudos envolvendo águas e efluentes, cada um com seu objetivo e descoberta particular. Observa-se claramente, que ao longo dos anos, a qualidade das pesquisas melhorou com o avanço tecnológico, o que permitiu reavaliações de diversos estudos gerando resultados mais exatos e precisos no ramo físico, químico, biológico e ambiental. No entanto, alguns pesquisadores deram e dão atenção não somente à porção líquida (e componentes dissolvidos), mas também à porção sedimentar, a qual tem tanta importância quanto a água. Nos últimos anos muitos estudiosos ressaltaram que o sedimento é a parte componente de um rio que gera maior número de dados e informações (BERBEL, 2008; PENG et al., 2009 e PFEIFFER et al., 1986).

Todo e qualquer rio é composto, além do curso de água, pela fase sedimentar. Segundo o CONAMA (2009), sedimento é um compartimento ambiental que desempenha um papel fundamental na qualidade da água, pois acumula e, em muitos casos, redistribui espécies químicas à biota. Portanto, sedimentos devem ser considerados em avaliação ambiental de um rio.

Segundo Suguio (1973), o desenvolvimento da sedimentologia ocorreu principalmente na América do Norte, com a descoberta de volumes fantásticos de petróleo em sedimentos pensilvanianos do oeste do Texas e em sedimentos devonianos do Canadá. Decorrente da indústria petrolífera, os Estados Unidos deram um impulso extraordinário à sedimentologia, seguido por outros países, da Europa e da Ásia, influenciados pela rota do progresso, que continua até os dias atuais.

O processo de sedimentação é caracterizado como um processo dinâmico da terra que ocorre na superfície, um ciclo natural que abrange processos da dinâmica externa da terra. A formação de rochas sedimentares é a consolidação do material formado pelo conjunto de alguns processos. Processos como intemperismo (processo físico ou químico que transforma a rocha dura/coesa em material friável – que se fragmenta facilmente) e a possibilidade de erosão e transporte do material para zonas topograficamente mais baixas. Essa erosão e esse transporte tanto podem ser do material detrítico, ou seja, do material em partículas; ou em solução, quando o material se dissolve. A ocorrência de erosão iônica e transporte podem levar a uma precipitação química. Esse material erodido e transportado é depositado nos chamados depósitos sedimentares. Qualquer região mais baixa em relação às áreas fontes do sedimento serão os locais de sedimentação ou os locais de deposição. Os agentes principais desses processos de erosão, transporte e sedimentação são a água doce líquida, tanto superficial como subterrânea doce ou salgada, além do gelo das geleiras que também se movimentam (TOLEDO, 2011).

Nos últimos anos, muitos estudos foram desenvolvidos tanto com sedimentos de água doce (presentes em lagos e rios) como com sedimentos marinhos (CHOUERI et al., 2009; PHILLIPS et al., 2009; SALGUEIRO-GONZÁLEZ et al., 2014). Em algumas localizações do Brasil, sedimentos marinhos são utilizados como ferramenta de avaliação de emissários submarinos.

Os sedimentos são classificados como todo material originário da destruição ou decomposição de qualquer tipo de rocha ou material de origem biológica, transportado e depositado ou apenas depositado na superfície terrestre. Os sedimentos compõem-se de partículas de diferentes tamanhos, formas e composição química, as quais foram transportadas pela água, ar ou gelo do ambiente terrestre de origem e depositadas no fundo de lagos, rios e oceanos. As concentrações de poluentes na água indicam a carga que o ambiente recebe no momento da coleta, enquanto que o sedimento reflete a contaminação ocorrida e acumulada no sistema ao longo de um período de tempo (MOZETO; UMBUZEIRO; JARDIM, 2006;

SILVA et al., 2011). Por isso a importância de estudá-los, visto que, como já foi dito, há poucos registros de caracterização de sedimentos na região da bacia do rio Paraíba do Sul.

Branco (2014) define sedimento como material originado da decomposição de qualquer tipo de rocha, material de origem biológica em decomposição ou resíduos provenientes da ação humana que são transportados e depositados no fundo dos corpos d'água.

Essas partículas contêm quantidade variável de materiais coprecipitados dos recursos hídricos por processos químicos e biológicos. Partículas transportadas pela água ordenam-se e depositam-se de acordo com suas propriedades em diferentes áreas dos reservatórios. Geralmente, materiais grossos, como areia e cascalho, sedimentam-se nas zonas perto da orla e partículas de granulação fina, como silte ou argila, são depositadas em águas profundas levadas pela ação da correnteza. Diferentes conceitos são empregados para a classificação de sedimentos de águas doce e marinha. Por exemplo, são classificados pela sua origem geográfica, geológica, geoquímica e propriedades físico-químicas, como cor, textura, granulometria, estrutura, conteúdo de matéria orgânica, etc (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009).

Os sedimentos desempenham uma importante função no processo de caracterização da poluição dos rios e lagos. Eles podem indicar a qualidade do sistema aquático e assim serem utilizados para detectar a presença de contaminantes. Por exemplo, alguns metais solúveis em água podem sofrer hidrólise e serem inicialmente depositados especialmente em locais de pouca correnteza. Posteriormente, eles voltam a se solubilizar pela ação de microrganismos. Esta dinâmica de algumas espécies químicas faz com que os sedimentos atuem como “estoque” e possíveis fontes de poluição, pois os contaminantes (espécies inorgânicas ou orgânicas) não permanentemente fixados por eles podem ser disponibilizados para a coluna d'água devido a mudanças de condições ambientais, como pH, potencial redox ou ação de microrganismos (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009).

Os estudos mais recentes, como Miguens et al. (2016), abrangem avaliação de metais pesados em sedimentos superficiais. Em contraste, a presença de estrógenos em sedimentos ou solo apresenta-se em menor número de referências, que são ainda menores do que os relatados em águas. Somente poucos trabalhos têm relatado métodos analíticos para a determinação de compostos orgânicos para essas matrizes sólidas (GABET et al., 2007).

A variabilidade do sedimento em um ponto decorre da heterogeneidade espacial, tanto vertical quanto horizontal. A heterogeneidade vertical é, principalmente, consequência da

oscilação histórica da contaminação; a horizontal é formada pela dinâmica de deposição das partículas (apresentando-se quimicamente em mosaicos) e pela distribuição agrupada das populações bentônicas. (CETESB, 2011).

Em estudos de sedimento há de se considerar também a variabilidade temporal, já que as variações sazonais podem influenciar a disponibilidade de contaminantes. Em reservatórios, a dinâmica de circulação/estratificação altera a relação de oxirredução das camadas profundas de água e, em períodos de seca, a exposição do sedimento marginal. Em rios, ocorre deposição de sedimentos finos no período da seca e lavagem desse material nas chuvas. Para estudos de caracterização e diagnóstico e programas de monitoramento da qualidade de sedimentos, uma única coleta anual no período de seca pode ser adequada (CETESB, 2011).

Mozeto, Umbuzeiro e Jardim (2006) afirmaram, a partir de estudos sobre trocas de espécies químicas dissolvidas entre o sedimento e a coluna d'água, que ao longo do tempo, este compartimento dos ecossistemas aquáticos deixou de ser considerado não mais apenas como um ambiente de (geo) acumulação de nutrientes (bem como, e as vezes, especialmente, de contaminantes), mas também de trocas e/ou interações dessas espécies com a coluna d'água e biota residente (neste caso, bioacumulação). Os estudos tiveram, como base de levantamento de dados, diversas frentes de pesquisa ou linhas de evidências. Visaram a determinação de estoques de nutrientes e contaminantes, ainda bastante estudados hoje em dia, incluindo metais, metaloides e compostos orgânicos persistentes como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, bifenilas policloradas e organoclorados, nos sedimentos totais e suas fases (água intersticial e elutriato). Também investigaram as propriedades biogeoquímicas (incluindo-se a coluna d'água), a determinação de toxicidade com diversos organismos-alvo e estudos, *in situ*, da estrutura das comunidades bentônicas.

O número de réplicas, que permite o conhecimento da variabilidade do sedimento em um ponto, pode ser definido a partir de dados obtidos em amostragem prévia, utilizando-se fórmulas que se baseiam em valores de variância, desvio ou erro padrão. No entanto, o número resultante de réplicas algumas vezes é inviável e opta-se por um número mínimo, considerando-se a capacidade analítica do laboratório. Em geral faz-se de 3 a 5 réplicas (CETESB, 2011).

Como comentado, as características do sedimento são resultados de diversos fatores ambientais e ecológicos, inclusive fatores biológicos que envolvem ciclos de vida. As cianobactérias, por exemplo, por terem necessidades fisiológicas semelhantes e ocuparem o

mesmo tipo de ambiente, competem com macrófitas aquáticas pelos recursos limitantes que são a luz e os nutrientes, de modo que o manejo de uma das comunidades tem implicações na outra. Essa competição exerce influência sobre o sedimento de fundo do local (AGEVAP, 2014).

Os microrganismos também têm um papel muito importante para toda a biota aquática, visto que são responsáveis pela oxidação e redução da matéria orgânica e reguladores dos ciclos biogeoquímicos conforme reação abaixo (STEENBOCK; VEZZANI, 2013).

Qualquer que seja o tipo de ambiente (rios, lagos, reservatórios, estuários e oceanos), a coleta para avaliação biológica, física e química dos sedimentos geralmente ocorre nas áreas de deposição de sedimentos finos (argila), já que normalmente são nesses locais que os contaminantes são retidos e a comunidade bentônica é mais desenvolvida. Em lagos, reservatórios e estuários o acúmulo de partículas finas ocorre na região mais profunda; em rios, nas margens deposicionais e nas áreas de remansos. A margem deposicional localiza-se no lado oposto ao da erosional, apresentando declive mais suave e, muitas vezes, bancos de macrófitas enraizadas. Remansos ocorrem em trechos meândricos e pantanosos (CETESB, 2011).

Como já dito, sedimentos consistem em partículas soltas de areia, argila, lodo e outras substâncias que se depositam no fundo de um corpo de água. Eles são considerados um arquivo de mudanças físicas e biogeoquímicas que ocorrem em ambientes aquáticos e, assim, muitas vezes têm sido usados para avaliar ambientes lacustres e oceânicos. Correntes, tempestades e furacões podem atuar como um processo físico para depositar sedimentos. Há relatos de rios que carregam sedimentos finos na ordem de 480 milhões de toneladas por ano para o mar (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009).

Os sedimentos se depositam continuamente ao longo dos anos. Modificações no ambiente influem diretamente na composição do sedimento. Na primavera, eles agregam pólen, e se ocorre uma grande queimada, são agregadas cinzas aos sedimentos. Dessa forma, as várias camadas dos sedimentos podem indicar não só como e quando ocorreu a contaminação de um estuário, lago ou reservatório, como também eventos naturais ou antrópicos que ocorreram na região. Pela análise do pólen é possível conhecer que tipo de vegetação existia na região em um passado bem distante. Quando se quer conhecer o histórico

de um sedimento se faz necessária à coleta de suas várias camadas. Para tal, dependendo dos objetivos, várias técnicas como manual (cilindros ou “cores”), guinchos, coletas de testemunhos (curtos, médios ou longos) ou de dragas podem ser utilizadas (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009).

A descarga de sedimentos no rio constitui uma terra-ligação para o mar que desempenha um papel crucial em ciclos globais biogeoquímicos (SILVA; PINTO; CARVALHO, 2016) e o rio Paraíba do Sul é de importância regional nos fluxos de sedimentos para a costa do Atlântico, já que tem um regime permanente e sempre carrega uma carga de suspensão elevada.

Os sedimentos são compostos por matéria orgânica e inorgânica de origens biogênicas e minerais particulados, sendo que sua natureza é relativamente heterogênea quanto a composição e características. As chamadas substâncias húmicas são o maior componente da matéria orgânica sedimentar, constituindo 60 – 90% do conjunto total de carbono orgânico em sedimentos lacustres. As fontes da matéria orgânica dos sedimentos pode ser alóctones (plantas terrestres) e/ou autóctone (algas, bactérias e macrófitas). Essa matéria orgânica desempenha um papel importante no ciclo biogeoquímico de carbono e nutrientes. Uma vez instalado em sedimentos, a matéria orgânica sofre muitas interações químicas e/ou transformações físico-biológicas nos ambientes sedimentares e o grau desses fenômenos é afetado pelas suas propriedades intrínsecas, como fatores externos e condições redox da matéria orgânica. (CHEN; HUR, 2015).

Eles agem como reservatórios ambientais que controlam a biodisponibilidade de metais e de hormônios acumulados e apresentam risco para a biota uma vez que podem potencialmente libertar quantidades consideráveis de componentes orgânicos e inorgânicos em determinadas condições ambientais (MATIC et al., 2014). Estudos como os de Friedman e Lohmann (2014) e Rico-Rico, Temara e Hermens (2009) propõem um modelo de Equilíbrio de Partição, o qual assume que existe um equilíbrio entre os contaminantes adsorvidos no carbono orgânico particulado e dissolvidos na água intersticial, cujo coeficiente de partição é K_{CO} (Figura 4).

Figura 4 – Rotas de exposição de organismos a contaminantes para exposição em água somente (esquerda) e em sedimentos (direita)

Fonte: (MOZETO et al., 2006)

A adsorção dos contaminantes, uma vez sendo função do carbono orgânico particulado, está também relacionada com a proporção das partículas de diferentes tamanhos que integram a fração sólida de solos e sedimentos. Essa proporção é uma das características mais constantes do solo e do sedimento e é conhecida como granulometria (MEGURO, 2000).

A determinação das dimensões das partículas do agregado e de suas respectivas porcentagens são determinadas através de peneiramento e são caracterizadas de acordo com os limites das frações de solo pelo tamanho das partículas segundo a ABNT (PINTO, 2000). As frações limites são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação das frações limites para partículas sólidas de acordo com a ABNT

Classificação das partículas	Margem das frações limites
Matação	25 cm a 1 m
Pedra	7,6 cm a 25 cm
Brita	4,8 mm a 7,6 cm
Areia grossa	1,2 mm a 4,8 mm
Areia média	0,3 mm a 1,20 mm
Areia fina	0,05 mm a 0,3 mm
Silte	0,005 mm a 0,05 mm
Argila	inferior a 0,005 mm

Conforme recomendações da Resolução CONAMA 420, de 28 de dezembro de 2009, que dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas, a fração de sedimento utilizada nas análises químicas, como para os metais a serem determinados neste estudo, deve ter granulometria menor que 2,0 mm.

Ao longo das décadas, o fluxo de nitrogênio e fósforo adsorvidos no sedimento tem aumentado constantemente. Essa incidência, não só em áreas seriamente poluídas, tem aumentado drasticamente devido a processos naturais e antropogênicos como fertilização artificial a base desses elementos (NI; WANG, 2015). Em altas concentrações, quando em água doce e condições de pH na faixa de 6 a 9 e temperatura entre 15 a 30°C, N e P são os principais nutrientes responsáveis pelo crescimento de organismos fotossintetizantes (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Li et al., (2016) estudaram o comportamento da adsorção de fósforo em sedimento em um sistema estático - reator fechado - e em um sistema dinâmico - canal hidráulico dinâmico. A cinética da solubilidade de fósforo reativo na água observada ao longo do tempo nos dois sistemas mostrou que sua adsorção por unidade de massa de sedimento no estado de quase-equilíbrio aumenta conforme a concentração inicial de fósforo na água aumenta ou conforme a concentração de sedimento diminui. No estado de quase equilíbrio a quantidade de adsorção varia dentro de um intervalo maior no sistema dinâmico quando comparado ao sistema estático devido à permuta contínua entre o sedimento em suspensão e o sedimento do leito do sistema.

No entanto, segundo Ni e Wang (2015), o risco do sedimento atuar como uma fonte de liberação de nutrientes pode aumentar em função das mudanças das condições ambientais,

como por exemplo com o decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido e aumento do pH.

As determinações de fósforo total (P_t) e nitrogênio total (N_t) em laboratório seguem metodologias clássicas e amplamente descritas e discutidas na literatura (MOZETO; UMBUZEIRO; JARDIM, 2006).

A concentração de fósforo total no sedimento é determinada por digestão oxidativa da amostra que libera o P, o qual está combinado com a matéria orgânica na forma de ortofosfato (PO_4^{3-}). Os íons PO_4^{3-} , ou fósforo solúvel reativo, reagem com molibdato em meio ácido para produzir um complexo de fosfomolibdato. O ácido ascórbico então reduz o complexo, originando uma intensa cor azul referente ao molibdênio (MOZETO; UMBUZEIRO; JARDIM, 2006)

Segundo diz em Rocha, Rosa e Cardoso (2009), a determinação de N total é feita pelo método de Kjeldhal através da liberação dos íons amônio, após digestão das matrizes em ácido sulfúrico, a quente (cerca de 300 – 350°C), na presença de catalisador (cobre). Na digestão, o conteúdo proteico dessas matrizes hidrolisa a gelatina, a qual é hidrolisada a aminoácidos para, finalmente, originar sulfato de amônio na solução sulfúrica final. O ácido sulfúrico promove uma desidratação e a carbonização da matéria orgânica gerando um tipo de carvão (condição redutora, a qual é essencial ao processo de conversão de nitrogênio proteico a amoniacal). A determinação do íon amônio é feita por titulação da amônia liberada, a partir da alcalinização do meio, a qual é retirada em solução de ácido bórico.

O excesso de H_2SO_4 é titulado com solução padronizada de NaOH

Atividades humanas promovem, também, o processo de eutrofização. Esse excesso de nutrientes ricos em fósforo e nitrogênio pode causar efeitos sérios na qualidade do sedimento e da biota. Para subsidiar o acompanhamento do processo de eutrofização em áreas de disposição sujeitas a esse processo, a caracterização do material a ser dragado deve incluir as determinações de carbono orgânico e nutrientes (nitrogênio Kjeldhal total e fósforo total) previstas na TABELA IV do anexo da Resolução CONAMA 344 (2004).

O nitrogênio e o fósforo enriquecem os sedimentos de lagos, represas, rios ou estuários. Esses nutrientes promovem, portanto, a produção orgânica através de processos naturais. Nos casos onde há impactos ambientais decorrentes de processos antrópicos, há uma aceleração significativa do processo natural, com prejuízos à beleza cênica, à qualidade ambiental e à biota aquática (CONAMA, 2004).

Sendo assim, é evidente que a população que compõe a região da bacia fica sujeita à exposição de componentes considerados tóxicos e patogênicos.

2.3 Biodisponibilidade de metais

Como já citado anteriormente, alguns metais pesados, acima de certas concentrações, são poluentes que podem produzir danos consideráveis ao meio ambiente. No corpo de água, eles podem prejudicar os organismos aquáticos, além de se acumularem nos sedimentos do meio aquático, através dos processos de adsorção química e precipitação física.

Desde a Revolução Industrial, que começou na Inglaterra em meados do século 19, cerca de 40% dos rios e lagos foram afetados por atividades humanas, o que vem provocando o acúmulo de metais nos sedimentos (ZHANG et al., 2016).

Os compostos metálicos que incorporados à fase sólida tornam-se menos biodisponíveis. Quando compõem a fase aquosa são mais passíveis de serem sequestrados pelos organismos. Contudo, o sedimento é um compartimento ativo, não só acumula material oriundo da coluna d'água, mas também reprocessa esse material, podendo torná-lo novamente disponível em solução. No Brasil, são poucos os trabalhos que estabelecem valores de referência (Background) para os metais em sedimentos lacustres. Um dos poucos trabalhos encontrados destacam-se Nascimento e Mozeto (2008), estabelecendo valores de referência regionais para a bacia do Tietê (POMPÊO et al., 2013).

Os metais, assim como muitos poluentes, podem chegar a ambientes costeiros na forma de partículas, favorecendo a sua deposição em sedimentos de fundo e, posteriormente, podem tornar-se biodisponíveis. Metais de origem antrópica, muitas vezes entram no meio ambiente como complexos inorgânicos ou íons hidratados, o que favorece a sua conexão com sedimentos superficiais através de interações físicas e químicas.

Abuchacra e colaboradores (2015), por sua vez, descreve a especiação e fracionamento de elementos pertencentes ao metabolismo de seres vivos (oligoelementos) sobre sedimentos. Segundo este estudo, a biodisponibilidade da fração específica é a melhor abordagem para

avaliar um potencial efeito tóxico, já que esses elementos têm suas concentrações totais associadas aos potenciais efeitos tóxicos sobre a biota e todos os vários estados iônicos de oligoelementos são igualmente tóxicos.

Segundo Pereira e colaboradores (2015), os metais são componentes naturais dos ecossistemas e quando em concentrações ótimas nos organismos apresentam características saudáveis para as atividades bióticas. No entanto, quando em altas concentrações, no sedimento ou na água, tornam-se uma ameaça para o ecossistema aquático devido a suas características de ecotoxicidade, podendo levar até a intoxicação humana através da cadeia alimentar.

Assim, o sedimento é uma importante fonte indicadora de qualidade de ecossistemas aquáticos porque eles agem como reservatórios naturais de espécies metálicas devido a sua capacidade de adsorvê-las em mais que 90% (CAMARGO et al., 2015). Diante disso, identificar fontes potenciais de metais nos sedimentos e repartir suas contribuições é de importância fundamental para propor estratégias de prevenção e controle da poluição do rio (CHEN et al., 2015).

Os metais são considerados biodisponíveis quando eles são dissolvidos na coluna de água, estão presentes na água intersticial, incorporados para sedimentos através de ligações químicas fracas ou na forma de complexos. A biodisponibilidade e a ecotoxicidade dos metais no sedimento dependem das interações entre muitas variáveis, tais como pH, salinidade, potencial redox, valência, conteúdo mineral e orgânico, solubilidade, agentes complexantes, oxigênio dissolvido e biota residente (MALM et al., 1988; PEREIRA et al., 2015).

O Cu, Mn, Zn, Pb e Fe são os mais encontrados tanto no sedimento como partículas suspensas na água (MALM et al., 1988). Dentre as metodologias, uma das mais utilizadas na determinação de metais é a espectrometria de emissão óptica, ICP – OES (do inglês, Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry). Essa técnica é usada por Bing e colaboradores. (2016) e por Pereira e colaboradores (2015) e é um método referenciado pela 3051A da USEPA (2015). Ela se baseia na utilização de atomizadores que não apenas convertem os componentes das amostras em átomos ou íons elementares, mas, no processo, excitam uma fração dessas espécies para estados eletrônicos mais altos. Como as espécies excitadas relaxam rapidamente voltando para estados de energia mais baixos, surgem linhas espectrais nas regiões do ultravioleta e do visível que são úteis para a análise elementar qualitativa e quantitativa (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

2.4 Avaliação ecotoxicológica de sedimento

Testes de toxicidade e bioensaios são largamente utilizados para a determinação da qualidade dos sedimentos, como por exemplo os chamados procedimentos de Avaliação e Identificação da Toxicidade (TIE – do inglês Toxicity Identification Evaluation). Essa metodologia se divide em três fases de manipulação, a fim de identificar o agente tóxico.

Ke e colaboradores (2015) fizeram testes de toxicidade crônica utilizando a espécie *Chironomus riparius* com o objetivo de avaliar e identificar o agente responsável pela toxicidade de amostras de sedimentos. Montero e colaboradores (2013) adotaram duas espécies de organismos em seus procedimentos TIE (anfípodes *Corophium multisetosum* e larvas *Paracentrotus lividus*) para identificar contaminantes dentre compostos orgânicos, metais e amônia em sedimentos marinhos. Já Martínez-Paz et al. (2013) fizeram uso de *Chironomus riparius*, que é um organismo rotineiro da biota aquática, para avaliar a genotoxicidade de vários poluentes ambientais frequentemente encontrados no ambiente, desde poluentes hormonais naturais até poluentes hospitalares.

Picone et al. (2016) avaliaram a possível correlação entre os resultados dos testes de toxicidade com granulometria e carbono orgânico, ou seja, como essas três características tratadas como variáveis se relacionam entre si. Observaram uma possível ocorrência de grande variabilidade da toxicidade devido a ensaios em diferentes épocas sazonais e efeitos crescentes sobre os organismos para matrizes que margeavam área industrial, porém com nível de contaminação moderado.

3 OBJETIVOS

No presente estudo foi feita a escolha do sedimento lacustre como matriz alvo para avaliação laboratorial. Essa escolha se deu porque sua caracterização possibilita não só uma compreensão da qualidade do rio, mas também permite associar as nossas atividades com o aumento dos riscos ambientais no local ao longo do tempo. Com isso, é possível discutir os efeitos gerados no ambiente com base nas características de amostras ambientais. E as conclusões podem auxiliar nas tomadas de decisões da comunidade que, hoje, está preocupada com o meio ambiente.

Tendo em vista que há poucas publicações referentes ao estudo de sedimento no rio Paraíba do Sul, o presente trabalho propõe tê-lo como principal objeto de pesquisa ambiental.

O objetivo geral é, portanto, caracterizar e avaliar amostras de sedimento coletadas no trecho paulista do rio Paraíba do Sul (Lorena, Cachoeira Paulista e Cruzeiro), a partir da determinação de seus parâmetros físicos, químicos, ecotoxicológicos e antropológicos.

3.1 Objetivos específicos

1. Avaliar a amostra de sedimento quanto à composição de matéria orgânica e adsorção de metais considerados biodisponíveis.
2. Otimizar cultivo dos organismos teste *Chironomus xanthus*.
3. Avaliar a toxicidade das amostras de sedimentos por meio de bioensaios de toxicidade crônica, utilizando como organismo-teste o *Chironomus xanthus*.
4. Correlacionar estatisticamente as condições observadas de modo a usar os resultados como ferramenta para verificar a qualidade do rio no trecho estudado.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Ácido Ascórbico ($C_6H_8C_6$), 176,13 g . mol⁻¹, Vetec, 99%

Ácido Bórico (H_3BO_3), 61,83 g . mol⁻¹, Vetec, 99,5%

Ácido Clorídrico (HCl), 36,46 g . mol⁻¹, Sigma Aldrich, 37%

Ácido Nítrico (HNO_3), 63,01 g . mol⁻¹, Sigma Aldrich, 65% P.A.

Ácido Sulfúrico Concentrado (H_2SO_4), 98,08 g . mol⁻¹, Sigma Aldrich, 99%

Bicarbonato de Sódio ($NaHCO_3$), 84,01 g . mol⁻¹, Vetec, 99,7 – 100,3%

Cloreto de Potássio (KCl), 74,56 g . mol⁻¹, Vetec Química Fina

Fosfato de Potássio Monobásico Anidro (KH_2PO_4), 136,09 g . mol⁻¹, Vetec, P. A.

Hidróxido de Sódio (NaOH), 40,00 g . mol⁻¹, Sigma Aldrich, 97%

Molibdato de Amônio ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot H_2O$), 1235, 86 g . mol⁻¹, Sigma Aldrich, P. A.

Sulfato de Cálcio ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$), 172,17 g . mol⁻¹, Vetec, 98-102%

Sulfato de Cobre Anidro ($CuSO_4$), 159,61 g . mol⁻¹, Vetec Química Fina, 97%

Sulfato de Magnésio ($Mg SO_4 \cdot 7H_2O$), 246,48 g . mol⁻¹, Dinâmica, 98-102%

Sulfato de Potássio (K_2SO_4), 174,26 g . mol⁻¹ Vetec Química Fina, 99%

Tartarato de Antimônio e Potássio ($C_4H_4O_7KSb \cdot \frac{1}{2} H_2O$), 333,92 g . mol⁻¹, Vetec Química Fina

4.2 Amostragem

As amostras de sedimento foram coletadas com draga de aço inoxidável. Esta draga foi utilizada em amostragens nas margens do rio e consiste de um compartimento com furos para drenagem da água no momento da coleta, seguido de um cabo que auxilia o seu manuseio (Figura 5).

Figura 5 – Draga utilizada nas amostragens

Fonte: Arquivo pessoal

As amostras de sedimento foram coletadas nas margens do rio nos pontos definidos. Margens de rios são habitat natural de costume dos organismos utilizados nos bioensaios de toxicidade deste estudo.

As amostras foram colocadas em recipientes plásticos com capacidade volumétrica de 500 mL, os quais foram preenchidos até a boca para minimizar qualquer alteração da disponibilidade de contaminantes e manter as condições de oxirredução, já que os sedimentos se oxidam quando em contato com o ar. Os recipientes foram colocados em bolsas térmicas com gelo para serem transportados até o laboratório, onde foram transferidos para geladeira.

A draga escolhida atendeu as propostas da coleta devido à facilidade no seu manuseio.

O manuseio e preservação das amostras seguiram os procedimentos descritos nas normas da CETESB (2011) e NBR 15469 (2007).

4.2.1 Pontos de coleta

Foram realizadas amostragens em 6 pontos do rio Paraíba do Sul, os quais envolvem localizações a montante e a jusante de 3 cidades do estado de São Paulo: Lorena, Cachoeira Paulista e Cruzeiro.

Os pontos de amostragem são apresentados nas imagens da Figura 6, cujas coordenadas geográficas são:

Lorena Montante (LM): S 22° 44' 33,1'' e W 45° 08' 41,5'';

Lorena Jusante (LJ): S 22° 42' 09,1'' e W 45° 06' 02,1'';

Cachoeira Paulista Montante (CPM): S 22° 40' 41,9'' e W 45° 04' 37,8'';

Cachoeira Paulista Jusante (CPJ): S 22° 38' 50,1'' e W 44° 59' 46,6'';

Cruzeiro Montante (CM): S 22° 36' 04,6'' e W 44° 58' 44,5'';

Cruzeiro Jusante (CJ): S 22° 34' 08,9'' e W 44° 55' 56,0''.

Figura 6 – Registros fotográficos das localizações onde as coletas foram realizadas, desde Lorena montante (LM) até Cruzeiro Jusante (CJ)

Fonte: Arquivo pessoal

Entre o primeiro (LM) e o último ponto de coleta (CJ) o rio percorre aproximadamente 41 km. A Figura 7 ilustra o caminho que o rio percorre neste trecho.

Figura 7 – Trecho de amostragem (aproximadamente 41 km de extensão) com 6 pontos de coleta

Fonte: Satélite

4.3 Análises estatísticas

Os métodos de análise utilizados para agrupar os dados obtidos neste trabalho foram 3. A análise de componentes principais (ACP) converte o conjunto de variáveis num conjunto de valores de variáveis linearmente não correlacionadas chamadas de componentes principais. A correlação de Spearman avalia a relação entre duas variáveis, a qual será alta quando ambas tiverem uma classificação semelhante. Para esta análise, utilizou-se o software STATISTICA 7®. Outra ferramenta estatística empregada na análise dos resultados obtidos nesse trabalho foi a análise de agrupamento de Cluster. Esse método permite agrupar conjuntos de dados a partir de suas similaridades, considerando todas as variáveis avaliadas. A ACP e análise de agrupamento de cluster foram feitas utilizando o pacote estatístico PAST version 2.16®.

5 METODOLOGIA

As amostras foram avaliadas quanto a parâmetros físicos e químicos – pH, condutividade e oxigênio dissolvido das águas intersticiais do sedimento; granulometria; teor de matéria orgânica (% MO); teor de carbono orgânico total (% COT); fração de silte e argila (% S + A); P total e N total –, concentração de algumas espécies de metais – Mn, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb – e foram, também, submetidas a ensaios ecotoxicológicos para avaliação de possível toxicidade crônica sobre organismos vivos da espécie *C. xanthus*. Uma representação esquemática é mostrada na Figura 8.

Figura 8 – Organograma simples representando as análises as quais as amostras foram submetidas

Fonte: Arquivo pessoal

5.1 Caracterização das amostras de sedimento

As medições provenientes das águas intersticiais foram realizadas no máximo no dia seguinte em que as amostras de sedimento coletadas chegaram ao laboratório.

5.1.1 Águas intersticiais

As águas intersticiais foram separadas do sedimento empregando-se uma centrífuga CU 5000 IEC da marca Damon.

Os valores de pH e da condutividade foram determinados a partir das águas intersticiais das amostras de sedimento, usando-se um medidor multiparâmetros (HI:9811-5 da marca Hanna). Uma porção foi centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante (água intersticial) foi retirado com auxílio de uma seringa de plástico e transferido para um recipiente limpo.

Os valores de OD também foram determinados a partir das águas intersticiais das amostras de sedimento, usando-se um oxímetro (AT – 160 da marca nacional Alfakit). Uma porção foi centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante (água intersticial) foi retirado com auxílio de uma seringa de plástico e transferido para um recipiente limpo para, então, imergir-se a sonda de leitura.

5.1.2 Granulometria

O procedimento utilizado para determinação da granulometria dos sedimentos foi o método de peneiramento descrito por Suguio (1973). Uma porção de cada amostra foi inserida numa estufa (002 CB da marca Fanem LTDA), a 110°C, para retirada de umidade, até massa constante. A ausência de umidade foi verificada quando a massa da amostra se manteve constante. Foram, então, utilizados 100g de sedimento seco. Fez-se o peneiramento usando peneiras com determinada abertura constituindo uma série padrão (Tabela 2 e Figura 9). O peneiramento foi feito em um agitador mecânico (Telastem Peneiras para Análises LTDA da marca Produtest) constituído por um conjunto de peneiras empilhadas, onde a peneira de menor diâmetro de malha (0,07 mm) foi colocada no fundo, a de maior diâmetro no topo (2 mm) e as intermediárias entre estas, em ordem crescente, da menor até a maior. A peneira de maior diâmetro retém, então, partículas maiores (Figura 10) e no fundo do conjunto de peneiras depositam-se partículas de diâmetro menor que 0,07 mm - sua forma é considerada como um pó - (Figura 11).

A classificação granulométrica das partículas contidas nas amostras de sedimento analisadas é feita de acordo com os parâmetros descritos na Tabela 2, cujos valores da abertura de cada mesh do conjunto de peneiras (Figura 9) que é encaixado no agitador mecânico estão elencados. As amostras ficaram em agitação durante 10 minutos e, após esse tempo, cada peneira foi pesada em balança semi-analítica para se obter a massa do material retido em cada uma.

Tabela 2 – Critérios de classificação granulométrica das peneiras

Abertura em mm	Mesh	Tamanho das partículas
		que passam pela abertura
2,00	9	Areia grossa
1,00	16	Areia grossa
0,84	20	Areia grossa
0,21	65	Areia fina
0,11	150	Areia fina
0,09	170	Areia fina
0,07	200	Silte + argila

Figura 9 – Conjunto de peneiras utilizado na análise granulométrica

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10 – Peneira retendo partículas maiores(mesh 9)

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 11 – Fundo do conjunto de peneiras retendo sedimento pulverizado (mesh 200)

Fonte: Arquivo pessoal

As partículas das amostras de sedimento do rio Paraíba do Sul com diâmetros $\leq 0,07$ mm (Figura 11) foram utilizadas na determinação do teor de matéria orgânica, fósforo total, nitrogênio total e metais.

5.1.3 Teor de matéria orgânica

O teor de matéria orgânica (% M.O.) foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Trindade (1980).

Cadinhos limpos e vazios foram calcinados em mufla (EDGCON 1P 3000 da marca EDG) por 4 horas, a 550°C. Após resfriamento em dessecador à temperatura ambiente, eles

foram pesados. As amostras de sedimentos com granulometria $\leq 0,07$ mm foram previamente secas em estufa a 110°C até massas constantes e resfriadas em dessecador. Em seguida, 0,2 g (m) de sedimento de cada amostra, foram transferidos para os respectivos cadinhos. As amostras foram colocadas na mufla, a qual foi aquecida a 550°C , permanecendo nessa temperatura por 4 horas. Os cadinhos foram resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e então, novamente pesados. A porcentagem de matéria orgânica foi determinada pela Equação 1. As determinações foram feitas para as 3 réplicas (triplicata) de cada ponto para garantir validação dos resultados e as pesagens foram feitas com precisão de 0,0001 g.

$$\% \text{MO} = \frac{(P1 - P2) \times 100}{m} \quad (1)$$

Onde:

% MO $\rightarrow$ porcentagem de matéria orgânica (%)

P1 $\rightarrow$ massa do cadinho seco + massa de sedimento antes da incineração (g)

P2 $\rightarrow$ massa do cadinho + massa de sedimento após incineração (g)

m $\rightarrow$ massa de sedimento (g)

5.1.4 Teor de carbono orgânico total

O teor de carbono orgânico total (% COT) foi determinado pela metodologia descrita por Meguro (2000), em que % COT é obtido a partir do teor de matéria orgânica (% MO), Equação 2.

$$\% \text{COT} = \frac{\% \text{M.O.}}{1,7} \quad (2)$$

Onde:

% COT $\rightarrow$ porcentagem de carbono contido na matéria orgânica

% MO $\rightarrow$ porcentagem de matéria orgânica calculada a partir da Equação 1

5.1.5 Fósforo total (P total)

Fósforo total (P total) foi determinado baseando-se na metodologia de Andersen (1975).

Massa igual a 0,2 g de sedimento previamente seco e pulverizado (partículas $\leq 0,07$ mm) foi pesada em cadinhos, os quais foram levados à mufla, a 550°C, por 2 horas. Os cadinhos, contendo sedimento isento de matéria orgânica, permaneceram em dessecador até o dia posterior, quando o material foi transferido quantitativamente para béqueres de 50 mL. 25 mL de HCl 1M foram adicionados nos béqueres e estes foram levados ao banho termostático (TE – 184 da marca Tecnal) por 2 horas, a 90°C. Após esfriar, o material foi diluído para 100 mL em balão volumétrico. Alíquota igual a 15 mL de cada balão foram transferidos para tubo de ensaio, onde foram adicionados 4 mL de uma solução desenvolvedora de cor (reagente cromogênico) e após reação realizaram-se as leituras espectrofotométricas (Espectrofotômetro Halo DB – 20 da marca Dynamica). O branco e os padrões foram tratados da mesma maneira que as amostras.

Neste trabalho, utilizou-se cubeta de quartzo de caminho óptico igual a 1 cm e as leituras foram feitas num comprimento de onda igual a 880 nm (Figura 12). A reação estudada é entre P e a solução desenvolvedora de cor.

Figura 12 – Varredura de comprimento de onda – tela do espectrofotômetro Halo DB – 20 da marca Dynamica

Fonte: Arquivo pessoal

Os valores das concentrações de P total foram determinados a partir de uma curva de calibração construída com padrão de P (KH_2PO_4 , 99% de pureza) (Figura 13).

Os resultados foram obtidos a partir da curva de calibração usando-se padrão de fósforo, cujo coeficiente de correlação da foi de 0,9876. A concentração de P total, em mg.L^{-1} , foi calculada a partir da Equação 3, que é a equação da reta linear da curva de calibração.

$$[\text{P}_{\text{total}}] = (\text{Abs da solução contendo a amostra} - 0,0436) / 0,4943 \quad (3)$$

Figura 13 - Curva de calibração para determinação espectrofotométrica da concentração de P total

Fonte: Arquivo pessoal

Para avaliar a repetitividade do método, foram tomados valores do coeficiente angular de 3 curvas e foi realizado cálculo de desvio padrão e desvio padrão relativo (DPR) (Tabela 3).

Tabela 3 – Média, desvio padrão e DPR de 3 coeficientes angulares de curvas de calibração de P total

Média dos coeficientes angulares	Desvio Padrão	DPR (%)
0,51033	0,014357	2,813

Os dados indicam que o método apresenta boa repetitividade, uma vez que o valor do desvio padrão relativo foi 2,813%.

Os valores encontrados a partir da equação da curva foram convertidos de mg.L^{-1} para mg.kg^{-1} conforme Equação 4:

$$P \text{ total } (\text{mg.kg}^{-1}) = \frac{\frac{[P \text{ total}] \times 100}{\frac{15 \times 10}{m}}}{(S+A) \times 1000} \quad (4)$$

Onde:

P total $\rightarrow$ concentração de P total no sedimento em m.kg^{-1}

[P total] $\rightarrow$ concentração de P total no sedimento em mg.L^{-1}

100 $\rightarrow$ volume de diluição da amostra

15 $\rightarrow$ alíquota

10 $\rightarrow$ diluição correspondente ao balão de 100 mL (relação 1000 mL/100 mL)

m $\rightarrow$ massa de sedimento pesada antes da etapa de incineração (g)

S + A $\rightarrow$ fração de silte + argila

1000 $\rightarrow$ conversão do valor quociente para kg

5.1.5.1 Solução desenvolvedora de cor

A solução desenvolvedora de cor abrange 4 soluções, denominadas de A, B, C e D; as quais foram preparadas como segue:

Solução A: ácido sulfúrico (H_2SO_4) 5N (69,42 mL de H_2SO_4 P.A. completando para 500 mL de água destilada em balão volumétrico)

Solução B: 1,3715 g de tartarato de antimônio e potássio ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_7\text{KSb}$) em 500 mL de água destilada.

Solução C: 20,000 g de molibdato de amônio (NH_4Mo) em 500 mL de água destilada

Solução D: 1,7600 g de ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) em 100 mL de água destilada

A solução desenvolvedora de cor foi preparada com alíquotas de cada uma das soluções (Tabela 4) e esta apresenta estabilidade de no máximo 4 horas.

Tabela 4 – Alíquotas para preparo da desenvolvedora de cor solução

Solução preliminar	Alíquota (mL)
A	50,00
B	5, 00
C	15,00
D	30, 00

5.1.6 Nitrogênio total (N total)

A concentração de nitrogênio total foi determinada de acordo com o método de Kjeldahl em conformidade com o procedimento descrito em livros (BACCAN; ANDRADE, 2001; ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009) e em protocolos que analisam nitrogênio Kjeldahl em amostras de sedimento e plantas conforme descrito em Perine (2015).

Para cada amostra, pesou-se 1 g de sedimento pulverizado (partículas $\leq 0,07$ mm) e seco e 2 g de catalisador – mistura catalítica de sulfato de cobre e sulfato de potássio, na proporção 2:1, respectivamente. A massa foi transferida para tubo de Kjeldahl e adicionou-se 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram colocados no bloco digestor e a temperatura foi elevada até atingir 300°C (Tabela 5) e a partir disso a solução dos tubos foi observada até atingir coloração clara verde azulada (Figura 14).

Tabela 5 – Rampa utilizada no bloco digestor para digestão de amostras de sedimento na determinação das concentrações de N total Kjeldahl

Etapa	Tempo da etapa (horas)	Temperatura (°C)
1 (rampa)	4	50
2 (rampa e patamar)	4	80
3 (rampa e patamar)	24	120
4 (rampa e patamar)	24	150
5 (rampa e patamar)	24	200
6 (rampa e patamar)	24	250
7 (rampa e patamar)	24	300
8 (patamar)	96	300

Figura 14 – Processo de digestão no bloco digestor para determinação de N total (método Kjeldahl), sendo a numeração 1 uma imagem logo após a adição do ácido sulfúrico concentrado e a numeração 9 a etapa da digestão finalizada

Fonte: Arquivo pessoal

Para cada amostra digerida foi feito o seguinte processo: diluição em 100 mL no tubo do destilador (K – 355, Buchi Switzerland), em seguida se fez o encaixe deste no aparelho e do erlenmeyer de 250 mL contendo 10 mL de solução indicadora (ácido bórico). Ao final da destilação (programada em 4 minutos) o erlenmeyer continha aproximadamente 75 mL de uma solução esverdeada. Titulou-se a solução do erlen com ácido clorídrico 0,01 mol . L⁻¹ até esta atingir coloração transparente levemente rosada – ponto de equivalência. O processo reacional que ocorreu durante toda a destilação foi anteriormente explicado no item 2.

O ensaio foi realizado para cada réplica do ponto correspondente e acompanhado de um branco. O N total foi determinado pela Equação 5:

$$N \text{ total} = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,014 \times 100}{M1 \times (S + A)} \quad (5)$$

Onde:

Va = Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra (mL);

Vb = Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco (mL);

F = Fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol . L⁻¹;

M_I = massa da amostra (g);

$S + A$ = fração de silte + argila.

5.2 Determinação de metais no sedimento

Conforme recomendações da Resolução CONAMA 420, de 28 de dezembro de 2009, utilizou-se o Método 3051A da USEPA (2015) para a determinação dos metais. Dessa maneira, avaliou-se a biodisponibilidade quanto a presença de Mn, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb.

Pesou-se 0,1g de sedimento seco, com granulometria $\leq 0,07$ mm em frascos de *Teflon*®. Posteriormente, adicionou-se 6 mL de HCl concentrado e 2 mL de HNO₃ concentrado. A mistura foi, então, submetida a aquecimento em forno de micro-ondas (modelo Ethos 1600, Milestone, Sorisole, Itália) para mineralização. O conteúdo foi avolumado com água deionizada para balão volumétrico de 50 mL. As condições de aquecimento são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6 – Programa utilizado no forno de micro-ondas para digestão de amostras de sedimento e materiais de referência certificados

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1 (rampa)	6	80
2 (patamar)	4	80
3 (rampa)	8	120
4 (patamar)	5	120
5 (rampa)	10	180
6 (patamar)	20	180

As medidas foram conduzidas em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, modelo 8300DV, Perkin-Elmer, Norwalk, EUA). Foram empregados os parâmetros: potência de frequência de rádio de 1400 W; vazão de argônio no plasma de 15 L min⁻¹; vazão de argônio auxiliar de 0,7 L min⁻¹ e vazão do gás de nebulização de 0,7 L min⁻¹. Foi utilizado nebulizador concêntrico Micromist e câmara de nebulização ciclônica (Figura 15).

O mesmo procedimento de digestão em forno micro-ondas e o mesmo procedimento de análise foram feitos com os padrões CRMs River sediment (BCR 320) e Estuarine

sediment (NIST 1646a). Os elementos estudados foram Mn (257.610 nm a), Fe (239.565nm a), Ni (231.598 nm a), Cu (324.748 nm a), Zn (213.857 nm a) e Pb (220.352 a), onde a letra **a** significa visão axial para as análises. As curvas analíticas de calibração foram de 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹ (para Mn, Ni, Cu, Zn e Pb) e 0; 5,0; 10; 25; 50 e 100 mg L⁻¹ (para Fe).

Figura 15 – Imagem do equipamento ICP OES com aproximação na câmara de nebulização

Fonte: Arquivo pessoal

A limpeza dos recipientes para ensaios de metais foi realizada pela imersão dos frascos de vidro em solução de ácido nítrico 10%, conforme procedimento descrito pela CETESB (2011).

Tendo em vista que, a massa que foi utilizada para determinação dos metais corresponde a fração de silte + argila (as partículas de sedimento com diâmetros $\leq 0,07$ mm provenientes do ensaio granulométrico), foi feito um cálculo levando essa fração em consideração, conforme a Equação 6:

$$M = m/w \quad (6)$$

Em que:

$M \rightarrow$ massa considerada para determinar a concentração dos metais analisados no sedimento (sedimento bruto seco)

$m \rightarrow$ massa da fração silte + argila pesada em balança analítica (aproximadamente 0,1)

W → fração do sedimento correspondente a silte + argila (ensaio granulométrico)

As massas encontradas (em mg) a partir das curvas de calibração, numa dissolução em 50 mL, foram divididas por essa massa M. Portanto, a unidade em que é dada a concentração dos metais no sedimento é mg.kg^{-1} , ou seja, miligramas do metal por quilograma de sedimento bruto seco.

5.3 Avaliação do efeito tóxico do sedimento

5.3.1 Coleta e tratamento da água utilizada no cultivo da espécie *Chironomus xanthus*

Amostras de água foram coletadas de uma mina localizada numa estrada próxima ao município de Piquete – SP (Figura 16). Utilizou-se frasco de polietileno, higienizado com água destilada, de uso exclusivo para armazenar a água de cultivo. Essa água natural coletada foi filtrada antes de ser utilizada para remoção de material particulado e possíveis organismos, com copo de separação de plâncton em PVC, dimensões 10 x 10 cm, com abertura de malha na faixa de 200 μm e tela em nylon.

Para o cultivo, utilizou-se água com e sem tratamento, o qual consiste no ajuste da dureza e pH. A dureza foi ajustada para atingir valor entre 40 e 48 mg.L^{-1} em CaCO_3 e o pH para a faixa de 7,0 a 7,6, usando-se soluções de $\text{CaSO}_4.2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{KCl/NaHCO}_3/\text{Mg SO}_4.7\text{H}_2\text{O}$, respectivamente – soluções preparadas conforme indicação da norma (ABNT 12713, 2016).

Figura 16 – Coleta de água da mina localizada próxima a uma nascente do município de Piquete – SP

Fonte: Arquivo pessoal

Para determinação da dureza, 50 mL de amostra d'água foram tituladas com solução de EDTA padronizada ($0,0127 \text{ mol.L}^{-1}$) em erlenmeyer de 125 mL, contendo 1 mL de uma solução tampão de amônio ($\text{pH} = 9,0$) e 2 gotas de indicador (negro de ericromo T). O ponto de viragem foi determinado pela mudança de coloração da solução da titulação de roxo escuro para azul. As determinações foram feitas em triplicata. O valor da dureza foi calculado pela Equação 7.

$$Dureza = \frac{\text{Vol.de EDTA (mL)} \times 1000 \times F}{\text{Vol. de amostra (mL)}} \quad (7)$$

Onde F é o fator de correção para o EDTA.

Valores de dureza foram determinados para: a água da mina todas as vezes que houve coleta, antes e após o tratamento desta (quando realizado); a água dos cultivos que foram conduzidos com água sem tratamento prévio. Toda água, antes de ser submetida ao organismo, foi submetida a aeração, que segundo Mozeto; Umbuzeiro e Jardim (2006), essa aeração é necessária para a estabilização do pH, manutenção do OD, redução da dureza e redução de alcalinidade.

5.3.2 Cultivo dos organismos

Os organismos utilizados nas análises dos efeitos tóxicos das amostras foram cultivados de acordo com o procedimento estabelecido no laboratório de Ecotoxicologia da EEL, baseado em Fonseca (1997).

Os organismos permaneceram, durante a fase larval, em bandejas plásticas contendo água de cultivo in natura ou água de cultivo tratada e areia lavada com água destilada, seca e incinerada. Na fase adulta, os organismos foram retidos por telas que permaneceram em cima das bandejas. Os cultivos foram mantidos no laboratório em sala especial a temperatura ambiente e em regime claro/escuro com fotoperíodo de 12 horas (Figura 17).

Figura 17 – Cultivo de *Chironomus xanthus* no laboratório de Ecotoxicologia da EEL - USP

Fonte: Arquivo pessoal

5.3.3 Testes de sensibilidade

Para avaliar a qualidade dos organismos cultivados em laboratório e garantir a confiabilidade dos bioensaios, foram feitos testes de sensibilidade, utilizando como substância de referência o cloreto de potássio, KCl. Esta substância foi utilizada em testes internacionais e em estudos de validação com bioensaios de toxicidade aguda com *Chironomus sp.* e, portanto, é uma substância que pode ser usada como referência em testes para assegurar as condições confiáveis do cultivo (OECD, 2011). Além disso, o KCl é recomendado por Fonseca, precursora brasileira em estudos com cultivo de *Chironomus xanthus*.

Inicialmente, foram preparados 2 L de uma solução estoque de KCl a 20 g.L^{-1} . A partir dessa solução foram preparadas 5 soluções de 250 mL de KCl nas concentrações de $1,5 \text{ g.L}^{-1}$; $2,25 \text{ g.L}^{-1}$; $3,5 \text{ g.L}^{-1}$; $5,0 \text{ g.L}^{-1}$; $7,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Os ensaios de sensibilidade foram feitos em sistema estático adicionando-se 1 organismo do 2º ínstar e 50 mL de solução de KCl em copos plásticos, transferidos para bandejas cobertas com plástico. Para cada concentração de KCl foram produzidas 15 réplicas (Figuras 18 e 19).

A sensibilidade das culturas de *C. xanthus* foi avaliada a partir do índice de sobrevivência das larvas entre o 2º e o 3º ínstar, expostas às soluções de KCl, por 96 horas. As larvas foram alimentadas no primeiro dia com aproximadamente 0,5 mL de solução de Tetramim® 5 g.L^{-1} . A sensibilidade foi determinada ao final do teste, medindo-se a mortalidade dos organismos (FONSECA, 1997).

A determinação da CE50 foi feita utilizando-se o software *Trimed Spearman-Kärber*. Através da média calculada da CE50 de pelo menos 5 testes, foram calculados dois desvios padrão: o superior e o inferior à média obtida, estabelecendo assim, a faixa de sensibilidade dos organismos em relação ao KCl (carta controle).

Figura 18 – Teste de sensibilidade em andamento na bancada da sala especial de cultivo (02/2016)

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 19 – Teste de sensibilidade em andamento em incubadora a 23°C (02/2016)

Fonte: Arquivo pessoal

5.3.3.1 Otimização do cultivo dos organismos *Chironomus xanthus*

Algumas condições foram avaliadas de modo a identificar o motivo da ocorrência de mortes inesperadas que foram observadas durante a realização de testes de sensibilidade e para posteriormente se obter resultados que pudessem validar a carta controle, além de

estabelecer condições ótimas para o cultivo, ou seja, que pudessem favorecer o cultivo da espécie no laboratório.

Tendo em vista a ausência de normas brasileiras certificadas para esses organismos cultivados no laboratório, assim como se faz com muitas espécies, recolheram-se dados importantes através de um planejamento experimental completo (2^3) para as variáveis temperatura (dentro e fora de incubadora), a frequência de alimentação (primeiro dia e todos os dias com 1 mL de ração Tetramin 5 g.L⁻¹) e água de cultivo (com e sem ajuste). As Tabelas 7 e 8 apresenta a matriz experimental empregada neste estudo.

Tabela 7 – Planejamento factorial em 2 níveis

Variáveis	Níveis	
	-	+
Temperatura	23°C	30°C
Alimentação	1 dia	Todos os dias (4 dias)
Água de cultivo	Sem ajuste	Com ajuste

Tabela 7 – Matriz de planejamento 2^3 para otimizar o cultivo de *Chironomus xanthus*

Variáveis	Temperatura	Alimentação	Água de Cultivo
Condições	Em laboratório (30° ± 3°C)	Primeiro dia	Com tratamento
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Primeiro dia	Sem tratamento
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Todos os dias	Com tratamento
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Todos os dias	Sem tratamento
	Em incubadora (23°C)	Primeiro dia	Com tratamento
	Em incubadora (23°C)	Primeiro dia	Sem tratamento
	Em incubadora (23°C)	Todos os dias	Com tratamento
	Em incubadora (23°C)	Todos os dias	Sem tratamento

5.3.4 Análise do efeito tóxico crônico com *Chironomus xanthus*

Os bioensaios (Figura 20) foram realizados expondo-se ao sedimento *C. xanthus* no estágio larval do 2º instar, durante 240 horas.

Figura 20 – Ilustração do bioensaio. Recipientes plásticos com amostra de sedimento, 10 organismos por recipiente e água de cultivo sob aeração em incubadora a 23°C

Fonte: Arquivo pessoal

Foram pesados 75 g de sedimento, mantido a temperatura ambiente, em recipientes plásticos. Em cada recipiente foram inseridos 300 mL de água de cultivo. Em seguida, o sedimento foi submetido à agitação para homogeneização e mantido sob aeração por 24 horas. Em cada recipiente foram adicionadas 10 larvas de *C. xanthus* no estágio do 2º instar.

Durante a realização do teste a água foi aerada e o recipiente coberto com um tecido permitindo a entrada de ar e luz, de forma a impedir a fuga de organismos em estágio adulto. O teste teve a duração de 10 dias, sendo que a cada dois dias, 100 mL da água foram substituídos por água de cultivo.

Diariamente, as larvas foram alimentadas com 1 mL de ração Tetramin® dissolvida em água destilada (5 g.L⁻¹). Os organismos foram mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 23 °C. A mortalidade dos organismos foi determinada ao final do período de 10 dias.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através do programa Toxstat versão 3.3 e expressos como tóxico ou não tóxico.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os critérios adotados para a escolha deste trecho paulista baseiam-se em (1) proximidade do local de estudo, a EEL; (2) a região tem sido foco das pesquisas de monitoramento ambiental do grupo de pesquisa; (3) dos 9 sub-compartimentos (sub-bacias divididas por municípios) do estado de São Paulo, essas 3 cidades fazem parte do segundo mais populoso (IPT, 2012)

6.1 Caracterização das amostras de sedimento

6.1.1 Águas intersticiais

Os resultados da caracterização das águas intersticiais do sedimento quanto à variação e pH, condutividade e OD, são mostrados nas Figuras 22, 23 e 24, respectivamente.

Os valores de pH variaram de 7,20 a 6,13 nas amostragens efetuadas entre as cidades de Lorena e Cruzeiro. Do ponto de vista estatístico houve mudança significativa de pH apenas quando foram comparados os valores obtidos a partir das amostras de água intersticial retiradas a jusante nas cidades de Lorena e Cruzeiro entre a época seca e chuvosa. A maior variação ocorreu a jusante de Lorena onde o pH variou de 6,13 a 7,20 nas amostras coletadas na estação seca e chuvosa, respectivamente.

Observou-se que a média dos valores de pH das águas intersticiais das amostras de LM, LJ e CJ se apresentaram mais próximos à neutralidade na época de seca, $7,1 \pm 0,3$, $7,2 \pm 0,1$ e $6,9 \pm 0,1$, respectivamente. Enquanto que, na época chuvosa, foi observado maior aproximação de neutralidade para a média das amostras de LM ($7,2 \pm 0,8$) (Figura 21).

Figura 21 – Valores de pH de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), determinados a partir de sonda multiparamétrica

Fonte: Arquivo pessoal

Segundo Phillips et al. (2009), o pH pode afetar a biodisponibilidade de metais na água intersticial. (LUOMA e colaboradores (2008) reportaram que em pH próximo da neutralidade o coeficiente de partição dos metais entre a água intersticial e o sedimento favorece a ligação dos metais a este último, diminuindo sua biodisponibilidade.

A condutividade da água, expressão numérica da capacidade de condução de corrente elétrica, variou bastante nas amostras de águas intersticiais analisadas entre as cidades de Lorena e Cruzeiro (Figura 22). Os valores de condutividade foram maiores para as amostras coletadas a montante de Lorena na estação chuvosa ($1150,00 \pm 132,29$) $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ e a jusante de Cruzeiro na estação seca ($710,00 \pm 95,39$) $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$.

Todas as amostras apresentaram condutividade superior a $100 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$, valor máximo estabelecido pela CETESB (2009), para águas superficiais. Esses valores altos podem ser uma indicação de que os sedimentos estão sendo impactados pela poluição do Rio Paraíba do Sul.

Tendo em vista que o sedimento é uma matriz acumuladora de contaminantes é esperado valores de Cond. muito maiores em suas águas intersticiais do que na coluna d'água.

Figura 22 – Valores de condutividade de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), determinados a partir de sonda multiparamétrica

Fonte: Arquivo pessoal

.Os níveis de oxigênio dissolvido indicam a capacidade de um corpo d'água natural em manter a vida aquática, já que poucas espécies resistentes às condições severas de poluição conseguem sobreviver (CETESB, 2009).

A concentração de oxigênio dissolvido nas águas intersticiais dos sedimentos amostrados na época de seca e de chuva no rio Paraíba do Sul no trecho de Lorena a Cruzeiro é mostrado na Figura 23.

Observou-se que a média dos valores de OD das águas intersticiais foram maiores para as amostras de LM e LJ na estação seca, ($4,4 \pm 0,3$) e ($4,0 \pm 0,2$) mg.L^{-1} , respectivamente. Observou-se também uma diminuição da concentração de oxigênio dissolvido das águas intersticiais de amostras de sedimento coletadas em Lorena na estação chuvosa. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a concentração de oxigênio dissolvido entre o período de seca e chuva para as águas intersticiais de sedimentos coletados a montante de Cachoeira Paulista e Cruzeiro e a jusante de Cruzeiro.

A grande variabilidade encontrada para concentração de oxigênio dissolvido nas águas intersticiais pode ser explicado em função da variação de temperatura e salinidade da água

durante os períodos de amostragem. Essas diferenças também podem estar relacionadas as características hidráulicas dos locais de amostragem (CETESB, 2009). Resultados semelhantes foram obtidos por Pompêo e colaboradores (2013), que reportaram variação na concentração de oxigênio dissolvido de 1,30 a 5,50 mg.L⁻¹ (média igual a 3,14 mg.L⁻¹) na interface água/sedimento de amostras coletadas na represa de Guarapiranga em São Paulo.

Seus estudos com amostras de sedimento de uma represa, obtiveram valor médio igual a 3,14 mg.L⁻¹ com máximo e mínimo iguais a 5,50 e 1,30 mg.L⁻¹, respectivamente, ao medirem OD nos cinco centímetros de água que habitava a interface água/sedimento presente no tubo coletor no momento das coletas. Neste estudo o valor médio obtido para O.D. das águas intersticiais foi igual a 2,00 mg.L⁻¹ com máximo e mínimo iguais a 4,42 e 0,75 mg.L⁻¹, respectivamente. Mesmo tratando-se de rio, em que a taxa de aeração é maior que em uma represa, é de se esperar valores mais baixos de OD em águas intersticiais de amostras de sedimentos, principalmente por se tratar de sedimentos marginais, pois a velocidade nas margens é menor.

Figura 23 – Concentração de oxigênio dissolvido de amostras de água intersticial de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas em época seca (agosto/2016) e chuvosa (novembro/2016), entre as cidades de Lorena e Cruzeiro, determinados a partir de oxímetro

Fonte: Arquivo pessoal

6.1.2 Granulometria do sedimento

Os resultados da análise granulométrica dos sedimentos coletados do rio Paraíba do Sul entre Lorena Cachoeira Paulista e Cruzeiro, considerando-se a porcentagem de Areia Grossa, Areia Fina e Silte + Argila (S + A) são mostrados nas Figuras 24, 25 e 26, respectivamente.

Para quase todas as amostras, com exceção de LM e CJ na estação seca, observou-se o predomínio da porcentagem de areia fina, seguida da porcentagem de S + A, a exceção das amostras de Cachoeira Paulista (CPM e CPJ) na estação chuvosa, com maior porcentagem de areia fina e areia grossa, respectivamente.

Figura 24 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Lorena nas estações seca e chuvosa

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 25 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Cachoeira Paulista nas estações seca e chuvosa

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 26 – Porcentual de Areia Grossa, Areia Fina e S + A das amostras coletadas a montante (M) e a jusante (J) da cidade de Cruzeiro nas estações seca e chuvosa

Fonte: Arquivo pessoal

Segundo Casado-Martinez e colaboradores (2010), a fração dos sedimentos contendo S + A é a que apresenta maior capacidade de adsorção de contaminantes, enquanto as partículas maiores atuam como diluentes. Essa capacidade de adsorção é diretamente proporcional a área superficial, que aumenta com a diminuição da granulometria das

partículas (Zagatto e Bertoletti, 2008) e que está diretamente envolvida aos aspectos ecológicos ligados aos sedimentos (LUOMA; RAINBOW; LUOMA, 2008).

Devido à importância dessa fração no que diz respeito aos aspectos ecológicos dos sedimentos, foram destacados na Figura 27 a variação dos teores de S + A nas amostras de sedimento coletadas no rio entre os municípios de Lorena e Cruzeiro. Essa fração é responsável pela acumulação de matéria orgânica e metais pesados que são adsorvidos no sedimento.

A análise dos resultados da Figura 26 mostrou uma menor proporção da fração S + A, no período de chuvas do que no período de seca e pode ser justificada como uma consequência do arraste dos componentes mais finos pela água da chuva, que dificulta a redeposição de partículas transportadas a montante dos pontos analisados.

Figura 27 – Teores de S + A de amostras de sedimento do rio Paraíba do Sul, coletadas nas estações seca e chuvosa e determinados por meio de peneiramento e pesagem

Fonte: Arquivo pessoal

6.1.3 Caracterização da fração S + A

6.1.3.1 Teor de matéria orgânica (%MO) e de carbono orgânico total (%COT) presentes na fração de S + A dos sedimentos amostrados

Os resultados das determinações de matéria orgânica e carbono orgânico total na fração de S + A das amostras de sedimento coletadas entre Lorena e Cruzeiro nas estações seca e chuvosa são apresentadas nas Figuras 28 e 29, respectivamente.

O teor de matéria orgânica e COT encontrados nas amostras no período de seca não sofreu variação estatisticamente significativa para todas as amostras analisadas e foi de $11 \pm 1\%$ e $6,5 \pm 0,7\%$, exceto para o sedimento coletado a jusante de Cachoeira Paulista que apresentou teor de matéria orgânica menor ($8,4 \pm 0,5\%$ e $5,0 \pm 0,3\%$), respectivamente. No período de chuvas os sedimentos apresentaram menor porcentagem de matéria orgânica e COT, cujos valores médios foram de $7,7 \pm 0,9\%$ e $4,5 \pm 0,5\%$, respectivamente.

A diminuição dos teores de MO e COT no período de chuva pode ser justificado pelo arraste desse material das margens do rio pela correnteza. Nesse sentido, deve ser considerado que tanto fatores antropogênicos como naturais fazem com que MO oscilem no decorrer do tempo para um determinado local que se deposita no sedimento. Valores não idênticos para os pontos revelam o quão dinâmica e complexa é a natureza (CARREIRA et al., 2015).

Os valores de MO encontrados estão dentro do esperado para sedimentos de rios, que segundo (MOZETO; UMBUZEIRO; JARDIM, 2006), devem-se apresentar na faixa de $10 \pm 1\%$. Além disso, o valor encontrado para teor de COT encontra-se abaixo do valor de 10%, estabelecido pela Resolução CONAMA 344, de 25 de março de 2004, que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, o que não deve causar danos ambientais.

Figura 28 – Teores de MO determinados por diferença de massa antes e após incineração em mufla

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 29 – Teor de COT determinado por incineração

Fonte: Arquivo pessoal

6.1.3.2 Fósforo total (P total)

Os resultados obtidos na determinação da concentração de P total nas frações de S + A das amostras de sedimentos são mostradas na Figura 30.

A maior concentração de P total foi observada a montante de Cachoeira Paulista (1870 $\pm$ 71 mg.kg⁻¹) no período de seca. Concentrações um pouco inferiores foram detectadas no ponto a montante de Lorena na época chuvosa e a Jusante de Cachoeira Paulista para ambas as estações. Os valores foram próximos de 1450 mg.kg⁻¹, não diferindo entre si do ponto de vista estatístico. Os menores valores de P total foram encontrados a montante de Lorena na estação seca, a jusante de Lorena em ambos os períodos, a montante de Cachoeira Paulista na estação chuvosa e em todas as amostras analisadas em Cruzeiro independentemente da época. Não houve diferença estatística nos resultados que ficaram em torno de 1000 mg.kg⁻¹.

Figura 30 – Resultados obtidos da análise de P total através de leituras espectrofotométricas e posterior conversão para unidades adequadas (Equação 3)

Fonte: Arquivo pessoal

Segundo a Resolução CONAMA 344 (2004), os valores de P total observados se encontram abaixo do valor alerta (2000 mg.kg⁻¹), o que não deve causar prejuízos ambientais.

6.1.3.3 Nitrogênio total (N total)

Os resultados da determinação da concentração de N total foram obtidos a partir das frações de S + A das amostras e reportados em relação a massa total de sedimentos. Os resultados são mostrados na Figura 31.

As maiores concentrações de N total foram observadas, sem diferença estatística significativa, nos pontos a montante e jusante de Lorena e o ponto a jusante de Cachoeira Paulista, no período de seca, com valores próximos de 1100 mg.kg⁻¹. Concentrações um pouco inferiores, próximas de 600 mg.kg⁻¹, foram detectadas para os sedimentos dos demais pontos, também, sem diferenças estatisticamente significativas, com exceção do ponto a montante de Cruzeiro na estação chuvosa, o qual apresentou a menor concentração de N total (310 ± 37 mg.kg⁻¹). Todos os valores determinados mostraram-se muito abaixo do valor alerta de 4800 mg.kg⁻¹, conforme preconizado pela resolução CONAMA 344 (2004).

Figura 31 – Resultados obtidos da análise de N total através do método de kjeldhal nas amostras de sedimento

coletadas em estação seca e chuvosa nos 6 pontos estudados de trecho paulista do rio Paraíba do Sul

Fonte: Arquivo pessoal

6.1.3.4 Determinação dos metais biodisponíveis no sedimento

Metais pesados presentes em sedimentos podem se tornar biodisponíveis ao serem liberados para a coluna d'água a partir de mudanças nas condições do rio com consequentes prejuízos ambientais, como já mencionado anteriormente.

A Resolução CONAMA 344 (2004) estabelece valores de concentração que devem ser utilizados para verificar o grau de contaminação das águas por metais biodisponíveis, com vistas a monitorar a qualidade e a proteção da biota aquática. Os valores de referência são conhecidos como “Valores Guia da Qualidade de Sedimentos (VGQSs)” e são representados por TEL (Threshold Effect Level), que estabelece a concentração abaixo da qual raramente é esperada a ocorrência de efeitos para os organismos e PEL (Probable Effect Level), que representa a concentração acima da qual frequentemente é esperado efeito para a biota. Esta é uma importante ferramenta na análise de risco ambiental. Os valores de referência para os metais determinados nos sedimentos estudados nesse trabalho são apresentados na Tabela 9.

Tabela 8 – Valores de referência para metais totais para sedimento

Metais	TEL	PEL
	(mg . kg ⁻¹)	
Fe	-	-
Cu	35,70	197,00
Zn	123,10	315,00
Pb	35,00	91,30
Mn	-	-
Ni	18,00	35,90

Os resultados da concentração de Mn, Fe, Ni, Cu, Zn e Pb, obtidos a partir das frações de S + A das amostras e reportados em relação a massa total de sedimentos, são mostrados na Figura 32.

Figura 32 – Proporções de metais (em $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), obtidas por ICP-OES, nas amostras de sedimento coletadas em estação seca e chuvosa nos 6 pontos estudados de trecho paulista do rio Paraíba do Sul

Fonte: Arquivo pessoal

O Fe foi o metal encontrado em maior concentração em todos os pontos analisados independente da época de amostragem, seguido pelo Mn, Zn, Cu, Pb e, por último, o Ni.

Ni e Pb apresentaram concentrações abaixo do TEL, não sendo determinantes para possíveis danos ambientais. O valor encontrado para o Zn em CM na época seca situa-se entre TEL e PEL, que representa uma zona de transição, na qual os efeitos biológicos de toxicidade são incertos.

As maiores concentrações dos metais foram encontradas em sedimentos a jusante de Cruzeiro e podem ser atribuídas a presença de indústrias metalúrgicas instaladas na cidade (Maxion, CSA, Carron).

Os valores obtidos para cada metal se encontra no ANEXO A.

6.2 Avaliação do efeito tóxico crônico dos sedimentos usando *Chironomus xanthus*

O principal argumento que explica a realização de testes de toxicidade com sedimento é o fato de ser este um importante depósito para muitos contaminantes, que podem ser lenta ou bruscamente liberados para a coluna d'água (FONSECA, 1997). Assim, em complementação a caracterização química, foram realizados bioensaios utilizando organismos de hábitos bentônicos, da espécie *Chironomus xanthus* (Figura 33) para avaliar o efeito tóxico crônico que as amostras de sedimento exercem nestes organismos.

Os insetos da família *Chironomidae* são organismos extremamente adaptáveis a todos os tipos de ambiente, logo, apresentam um amplo espectro quanto aos requisitos ambientais. As vantagens de sua utilização em testes de toxicidade com sedimentos incluem o curto tempo de geração, a alta fecundidade, vários estágios larvais e a fácil manutenção em laboratório (FONSECA, 1997).

Figura 33 – Inseto da espécie *Chironomus xanthus*

Fonte: (A) e (D): Arquivo pessoal, (B) e (C): FONSECA (1997)

As larvas de *C. xanthus* iniciam a construção dos casulos a partir do 2º estágio de vida, pois durante o 1º estágio permanecem entre as partículas do substrato, alimentando-se das bactérias geradas pela fermentação aeróbia. Este estágio é predominantemente planctônico (FONSECA, 1997). Na Figura 5 (A) uma desova da espécie está representada, em (B) está representado o 2º estágio larval. A Figura 5 (C) ilustra o estágio de pupa já em fase de transformação em adulto, pois nota-se a extremidade da cabeça bem diferenciada e a Figura 5 (D) ilustra um organismo emergido adulto da espécie.

Para realização dos bioensaios este trabalho propõe seguir a metodologia utilizada por Fonseca (1997), precursora de estudos utilizando *C. xanthus*.

6.2.1 Otimização do cultivo dos organismos *Chironomus xanthus* e testes de sensibilidade

Segundo Mozeto, Umbuzeiro e Jardim (2006) a água de cultivo para organismos em testes de ecotoxicidade deve apresentar dureza considerando-se o valor médio encontrado nos rios e reservatórios da região em experimentação, cuja faixa adotada tem sido 40 a 48 mg.L⁻¹ em CaCO₃. A USEPA, por exemplo, recomenda dureza na faixa de 90 a 100 mg.L⁻¹ em CaCO₃. Já a norma estabelecida pela “Organization for Economic Co-operation and Development” (OECD), preconiza de dureza < 400 mg.L⁻¹ em CaCO₃ como uma das características químicas aceitáveis para águas naturais utilizadas em cultivo com espécies de *Chironomus sp.* (OECD, 2011).

Os primeiros testes de sensibilidade foram realizados corrigindo-se a dureza e o pH da água de cultivo dos organismos para 44,3 g.L⁻¹ em CaCO₃ e 7,0, respectivamente. Ao fim dos experimentos foi observado um índice elevado de mortalidade do organismo no controle (acima de 30%), o que impediu o uso dessa água para cultivo dos organismos. Desta forma, foi desenvolvido um estudo para determinar os fatores que poderiam estar ocasionando tal mortalidade. Isso foi feito através de um planejamento fatorial 2³. As variáveis estudadas foram temperatura, frequência de alimentação e uso da água de cultivo com e sem ajuste da dureza e pH e a resposta usada na avaliação foi a mortalidade de *Chironomus xanthus*. As condições e os resultados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 9 – Matriz com o resultado dos ensaios 2³ realizados no laboratório de ecotoxicologia da EEL para otimizar o cultivo e resultados quanto a mortalidade de *C. xanthus*

Variáveis	Temperatura	Alimentação	Água de Cultivo	Mortalidade (%)
Condições	Em laboratório (30° ± 3°C)	Primeiro dia	Com ajuste	100,00
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Primeiro dia	Sem ajuste	13,33
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Todos os dias	Com ajuste	66,67
	Em laboratório (30° ± 3°C)	Todos os dias	Sem ajuste	33,33
	Em incubadora (23°C)	Primeiro dia	Com ajuste	93,33
	Em incubadora (23°C)	Primeiro dia	Sem ajuste	26,67
	Em incubadora (23°C)	Todos os dias	Com ajuste	86,67
	Em incubadora (23°C)	Todos os dias	Sem ajuste	46,67

A interação entre as variáveis foi analisada através do software Minitab StatGuide. A magnitude e a significância estatística dos efeitos principais e da interação dos efeitos sobre a resposta foram reportadas através do diagrama de Pareto, mostrado na Figura 34. Os resultados estão listados a partir do valor absoluto dos efeitos em ordem decrescente. A linha de referência do diagrama indica qual efeito é significativo ao nível de 95% ($\alpha = 0,05$) de confiança. O único efeito significativo foi a “água de cultivo”. Os melhores resultados foram aqueles em que foi empregada a água sem ajuste de dureza e pH, cujos valores foram de 38,0 g.L⁻¹ em CaCO₃ e 7,0, respectivamente. Os demais efeitos (Alimentação e Temperatura) e as interações entre os efeitos não foram significativos.

Os resultados encontrados nesse trabalho contrariam fortemente o preconizado pela literatura consultada, a qual deve ser objeto de revisão.

Figura 34 – Diagrama de Pareto obtido a partir do planejamento fatorial 2^3 com 3 variáveis a fim de determinar.

Fonte: Arquivo pessoal

Assim, os ensaios de sensibilidade passaram a ser feitos com a água de cultivo in natura (38 mg.L^{-1} em CaCO_3 e pH 7). Os experimentos foram feitos submetendo-se os organismos *Chironomus xanthus* a 5 diferentes concentrações de KCl (substância de referência) por 96 horas. A título de exemplo é mostrado na Figura 35 um dos resultados do teste de sensibilidade obtido pelo software Spearman-Kärber1-5.

Estes testes foram efetuados para a obtenção da carta controle (Figura 36), a qual estabelece a faixa de sensibilidade dos organismos. A sensibilidade do *C. xanthus* foi determinada tomando-se os resultados de 7 ensaios, seguindo o procedimento experimental descrito no item 5.3.3., realizados no período de agosto de 2015 a agosto de 2016. Os resultados expressos em CE50, sua média e os limites superior e inferior que delimitam a faixa de sensibilidade são apresentados na carta-controle (Figura 36). A faixa de sensibilidade foi estabelecida calculando-se o valor médio ± 2 vezes o desvio padrão obtido a partir do resultado de CE50 dos 7 ensaios.

Figura 35 – Resultado exemplo (CE50) obtido para teste de sensibilidade dos organismos *C. xanthus*

DATE:	29/02/20	TEST NUMBER:	7	DURATION:	96 H
TOXICANT :	KCl				
SPECIES:	CHIRONOMUS XANTHUS				
RAW DATA:	Concentration	Number	Mortalities		
---	(g/L)	Exposed			
	.000	15	2		
	1.500	15	1		
	2.250	15	1		
	3.500	15	1		
	5.000	15	7		
	7.500	15	15		
SPEARMAN-KARBER TRIM:		.00%			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:	EC50:		5.22		
	95% LOWER CONFIDENCE:		4.74		
	95% UPPER CONFIDENCE:		5.75		
NOTE: MORTALITY PROPORTIONS WERE NOT MONOTONICALLY INCREASING. ADJUSTMENTS WERE MADE PRIOR TO SPEARMAN-KARBER ESTIMATION.					
WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER(Y/N)?					

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 36 – Carta controle da sensibilidade de *C. xanthus* ao KCl g.L⁻¹ contendo limites superior e inferior do intervalo de confiança e a média acumulada

Fonte: Arquivo pessoal

6.2.2 Análise do efeito tóxico crônico com *Chironomus xanthus*

Os resultados dos testes do efeito tóxico crônico dos sedimentos confirmaram que nenhum sedimento produziu efeito tóxico crônico sobre o *C. xanthus*, no intervalo de confiança de 95%. Tanto é que em amostras coletadas em Cachoeira Paulista foi possível detectar no sedimento a presença de exemplares de *Chironomus xanthus* (Figura 37).

Figura 37 – Imagem de microscópio modelo Q763ZT da QUIMIS: fotografia do organismo em estágio larval encontrado na amostra de sedimento a jusante de Cachoeira Paulista (novembro 2016)

Fonte: Arquivo pessoal

7 CORRELAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi empregada para verificar as correlações estatísticas entre os parâmetros analisados e os resultados obtidos a partir das amostras de sedimento coletadas.

A ACP pode ser aplicada a conjuntos de medidas correlacionadas, permitindo reduzi-las a poucas variáveis sintéticas (componentes principais). Deste modo, esta análise identifica quais variáveis são as mais relevantes na formação destes componentes e estabelece as possíveis correlações entre os parâmetros avaliados.

Os parâmetros estudados foram: concentrações de Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb, P total, N total, teores de MO, COT, S + A, e OD, pH e Cond, das águas intersticiais. Os resultados da ACP é mostrado na Figura 38.

Figura 38 – Ordenação com base na Análise de Componentes Principais (ACP) de correlação de variáveis de amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul, em 3 cidades, Lorena (L), Cachoeira Paulista (CP) e Cruzeiro (C), sendo que os prefixos numéricos 1 e 2 usados nas siglas dos pontos se referem às estações seca e chuvosa, respectivamente

Fonte: Arquivo pessoal

O critério para seleção do número de componentes principais é aquele que explica 80% da variância dos resultados. No caso, a primeira componente principal (CP) explicou 49,29%, seguida da segunda, 17,52% e da terceira, 13,57% que em conjunto explicam 80,38%. A Tabela 11 apresenta os autovalores relativos aos parâmetros analisados em conjunto, formando eixos que se agrupam e as porcentagens das variâncias, gerados na ACP. As variáveis mais significativas em cada cidade foram representadas pelas retas mais extensas.

Tabela 10 – Matriz dos coeficientes das variáveis físico-químicas de cada CP e contribuição de cada eixo na explicação do arranjo formado na ACP com base na matriz de correlações das variáveis físico-químicas de amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul nas estações seca e chuvosa

Variável	CP1	CP2	CP3
pH	0,000068	0,000115	0,000724
Cond.	0,047100	0,405100	0,869600
O.D.	0,000068	-0,000146	0,001095
% S + A	0,001914	-0,000665	-0,004852
% M.O.	0,000404	0,000232	-0,000583
% C.O.T.	0,000238	0,000140	-0,000340
N total	0,070420	-0,055710	0,256400
P total	0,004813	0,908800	-0,371500
Mn	0,031680	-0,002526	0,190300
Fe	0,996000	-0,018530	-0,060470
Ni	0,000534	-0,000309	-0,000831
Cu	-0,005929	-0,071250	0,011310
Zn	0,001235	-0,037340	0,005187
Pb	0,000684	0,001665	0,001318
Autovalores	6,90	2,45	1,90
% variância	49,29	17,52	13,57
% variância acumulada	49,29	66,81	80,38

Cada CP é uma combinação linear das variáveis. E em cada CP existe uma variável de maior associação, que é a que apresenta maior valor.

Além da ACP, também foi utilizada a Correlação de Spearman para verificação das correlações significativas, tanto positivas quanto negativas das variáveis analisadas, bem

como a intensidade dessas correlações. Os coeficientes dessas correlações variam entre -1 e 1 e quanto mais próximo destes extremos, maior será a associação entre estas variáveis.

A análise da Correlação de Spearman foi efetuada a partir dos resultados das análises dos sedimentos coletados na estação seca e chuvosa e são apresentados nas Tabelas 12 e 13 respectivamente.

Tabela 11 – Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis do rio Paraíba do Sul para a estação **seca** com correlações significativas em nível de 95% de confiança ($p < 0,05$)

	pH	Cond	O.D.	% S+A	% M.O.	%C.O.T.	N total	P total	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb
pH														
Cond.														
O.D.	0,82													
% S+A														
% M.O.	0,83													
%C.O.T.	0,82				1,00									
N total	0,83													
P total														
Mn		0,87					0,93							
Fe		0,91		0,83					0,85					
Ni		0,89		0,82					0,91	0,98				
Cu														
Zn												0,99		
Pb		0,85												

Os resultados estatísticos mostrados na Tabela 12 corroboram com os resultados obtidos a partir da ACP. Os parâmetros de maior associação da CP1 foram Cond. (0,047100), Mn (0,031680) e Fe (0,996000). Os parâmetros que apresentaram correlação positiva a partir da Correlação de Spearman Cond. x Mn (0,87); Cond. x Fe (0,91) e Fe x Mn (0,85).

Tabela 12 – Coeficiente de Correlação de Spearman entre as variáveis do rio Paraíba do Sul para a estação chuvosa com correlações significativas em nível de 95% de confiança ($p < 0,05$)

	pH	Cond	O.D.	% S+A	% M.O.	%C.O.T.	N total	P total	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb
pH														
Cond.	0,88													
O.D.														
% S+A														
% M.O.														
%C.O.T.					1,00									
N total					0,93	0,93								
P total					0,93	0,93	0,93							
Mn	0,86	0,90												
Fe				0,99										
Ni				0,95					0,84	0,96				
Cu	-0,34		-0,58	-0,15	-0,07	-0,07		-0,11	-0,04	-0,16				
Zn														
Pb											0,85		0,90	

Os resultados estatísticos mostrados na Tabela 13 também corroboram com os resultados obtidos a partir da ACP, uma vez que Cond. e Mn apresentaram correlação positiva com pH: Cond. x pH (0,88) e Mn x pH (0,86). Além disso, P total apresentou correlação positiva com N total (0,93), que é uma variável forte discriminada pelo CP1 e correlação negativa com Cu, variável de menor valor da CP1 e da CP2. O Cu também apresentou correlação negativa com pH, O.D., %S+A, %M.O., %C.O.T., Mn e Fe.

Ao analisar a Figura 38, observa-se que a concentração de Cu e Zn está fortemente relacionada com a amostra de sedimento do ponto a montante de Cruzeiro. Entretanto deve se ter cuidado na interpretação desses resultados, uma vez que o erro experimental obtido na determinação desses componentes foi extremamente grande (ver Figura 32).

Os resultados da análise de agrupamento de Cluster são mostrados na Figura 39. Observou-se 2 grandes grupos com nível de similaridade maior que 85%.

Figura 39 – Representação, na forma de dendograma, da Similaridade de Bray Curtis (%) obtido a partir das variáveis analisadas nas amostras de sedimento de trecho paulista do rio Paraíba do Sul coletadas em estação seca (prefixo1) e estação chuvosa (prefixo 2), entre os pontos de coleta

Fonte: Arquivo pessoal

O grupo A, com nível de similaridade de 86%, foi composto por CM nas duas estações e por LJ e CPM na estação chuvosa.

Estes pontos correspondem à trechos de maior largura do rio, em que podem apresentar maior distribuição de contaminantes no trecho. Como observado, os valores encontrados dos parâmetros para esses pontos e estações não foram os maiores.

O grupo B, com similaridade igual a 89%, foi composto por dois subgrupos. Um deles compreendendo os pontos 2LM, 1CPM, 1CPJ, 2CPJ e 2CJ e, o outro compreendendo os pontos a montante e a jusante de Lorena na estação de seca.

O ponto CJ na estação de seca, isolado no dendograma, apresentou características distintas dos demais ao longo do trecho avaliado (similaridade de 75%).

De modo geral, os pontos de coleta referentes ao período de seca e chuvosa permaneceram agrupados, sem distinção forte entre os pontos coletados.

8 CONSIDERAÇÕES

Este trabalho, com o intuito de gerar publicação em revistas cuja “Sustentabilidade” seja foco temático, tem como proposta elucidar a importância da incorporação da perspectiva diferente para uma governança mais efetiva dos diversos ramos que envolvem a bacia do rio Paraíba do Sul, como das águas, da biota, dos tratamentos anteriores aos despejos, das localizações de monoculturas e indústrias, etc, que, por consequência afetam a porção sedimentar do rio.

Deve ser salientado que o ensaio do sedimento auxilia a tomada de decisões sobre as medidas que devem ser adotadas no estabelecimento de programas de controle, mitigação e recuperação do ambiente (CETESB, 2011).

Vale lembrar que todas as amostras analisadas neste estudo são correspondentes a sedimento marginal de rio, o qual representa a amostra que mais acumula matéria orgânica, que, por consequência, acumula mais contaminantes. E, por este motivo, os dados aqui apresentados não são equivalentes a amostras de sedimento de fundo do meio do rio. Porém, é possível se ter uma ideia concreta do caminho que vem tomando o cenário qualitativo deste trecho.

Sabe-se que na cidade de Lorena já existe um projeto agroeducativo e sustentável que fará parte de uma ONG nos próximos anos. Existente há 8 anos, o projeto conduzido por ex-universitários é um ponto de partida para as devidas mudanças necessárias, desde a base (conscientização da população) até a execução de ações efetivas (recuperação de nascentes, agricultura sem veneno e geração de renda sem liberação de resíduos tóxicos, como o lixo industrial). Diante disso, pode-se dizer que já existem medidas efetivas sendo realizadas por pequenas comunidades.

Problemas relacionados à qualidade e quantidade da água vêm afetando os mais diferentes setores da sociedade. Tendo em vista esse cenário, a busca da segurança hídrica torna-se um imperativo e as políticas públicas cada vez mais devem ter como objetivo a ampliação do conhecimento nessa área, visando a democratização do acesso à água.

9 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que os sedimentos no trecho estudado estão dentro das especificações preconizadas pela legislação ambiental e não provocaram efeito tóxico crônico sobre o organismo teste *Chironomus xanthus*.

As águas intersticiais isoladas do sedimento mostraram condutividade superior a 100 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, que, segundo o preconizado pela CETESB tem características corrosivas.

As porcentagens de silte + argila, matéria orgânica e carbono orgânico total no sedimento estão dentro do estabelecido na Resolução CONAMA 344, de 2004. Bem como as concentrações de fósforo e nitrogênio Kjeldahl totais também apresentaram valores abaixo dos valores alerta de acordo com essa Resolução.

Os resultados mostraram que os metais presentes no sedimento não estão biodisponíveis. Todos os metais foram encontrados em concentrações abaixo de TEL. As altas concentrações de Fe não são ambientalmente limitantes e provavelmente fazem parte da geologia do rio.

Um resultado importante obtido foi a questão do ajuste da dureza e pH na água de cultivo dos organismos utilizados para a avaliação do efeito toxico crônico, que contraria o recomendado pela literatura consultada nesse trabalho.

Ao cultivar os organismos *Chironomus xanthus* para bioensaio de toxicidade, verificou-se as melhores condições em que esse organismo permanecia em atividade no laboratório. Os testes de sensibilidade realizados nas melhores condições permitiram a construção de uma carta controle expressando a faixa de sensibilidade para o KCl. Os resultados para os bioensaio demonstraram que as condições dos sedimentos dos 6 pontos analisados não apresentaram toxicidade crônica para a espécie. A presença de organismos em amostra coletada (CPJ) foi uma evidência que a espécie reside nessa matriz e que ela ainda não sofre impacto dos contaminantes.

Referências

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com Crustacea, Cladocera, Rio de Janeiro, 2016.

_____. **NBR 15469**. Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras, Rio de Janeiro, 2007.

ABUCHACRA, P. F. F.; AGUIAR, V.M.C.; ABUCHACRA, R.C; NETO, J.A.B.; OLIVEIRA, A.S. Assessment of bioavailability and potential toxicity of Cu, Zn and Pb, a case study in Jurujuba Sound, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 100, n. 1, p. 414–425, 2015.

AGEVAP – ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL. **Plano de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul** - Resumo: relatório contratual. 2006, p. 201.

_____. **Plano integrado de recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio paraíba do sul e planos de ação de recursos hídricos das bacias afluentes**: relatório de diagnóstico, 2014

ANDERSEN, J. M. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. **Water Research**, v. 10, p. 329–331, 1975.

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C. de. **Química analítica quantitativa elementar**. 3. ed. Edgard Blucher, 2001.

BALDOTTO, M. A.; CANELLAS, L. P.; ROSA, R. C. C., RANGEL, T. P., SALOMÃO, M. S. M. B; REZENDE, C. E. Capacidade de oxidação como índice de estabilidade da matéria orgânica de sedimentos de acordo com gradiente fluvial-estuarino do rio Paraíba do Sul. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 973–978, 2011.

BERBEL, G. B. B. **Estudo do fósforo sedimentar e de suas especiações químicas em dois sistemas costeiros e Plataforma Continental Sudeste (Brasil) e Baía do Almirantado (região antártica) considerando suas relações biogeoquímicas**. 2008. 94 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto Oceanógrafo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BING, H.; WU, Y.; ZHOU, J.; WANG J. Historical trends of anthropogenic metals in Eastern Tibetan Plateau as reconstructed from alpine lake sediments over the last century. **Chemosphere**, v. 148, p. 211–9, abr. 2016.

BRANCO, P. M. **Dicionário de mineralogia e gemologia**. 2. ed. Oficina de Textos, 2014.

CAMARGO, J. B. D. A.; CRUZ, A. C. F.; CAMPOS, B. G.; ARAÚJO, G. S.; FONSECA, T. G.; ABESSA, D. M. S. Use, development and improvements in the protocol of whole-sediment toxicity identification evaluation using benthic copepods. **Marine Pollution Bulletin**, v. 91, n. 2, p. 511–517, 2015. 99

CARREIRA, R. S.; CORDEIRO, L. G. M. S.; OLIVEIRA, D. R. P.; BAÊTA, A.; WAGENER, A. L. R. Source and distribution of organic matter in sediments in the SE Brazilian continental shelf influenced by river discharges: An approach using stable isotopes and molecular markers. **Journal of Marine Systems**, v. 141, p. 80–89, 2015.

CASADO-MARTINEZ, M. C.; SMITH, B. D.; LUOMA, S. N.; RAINBOW, P. S. Metal toxicity in a sediment-dwelling polychaete: Threshold body concentrations or overwhelming accumulation rates? **Environmental Pollution**, v. 158, n. 10, p. 3071–3076, 2010.

CEIVAP – COMITÊ DE INTEGRAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL. **Mapa da bacia do rio Paraíba do Sul**. Disponível em: <<http://ceivap.org.br/>>. Acesso em maio de 2016.

CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo**. Qualidade das águas interiores no Estado De São Paulo. São Paulo, 2009, p. 1–43.

_____. Guia nacional de coleta e preservação de amostras - água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. São Paulo, 2011, 326 p.

CHEN, H.; TENG, Y.; LI, J.; WU, J.; WANG, J. Source apportionment of trace metals in river sediments: A comparison of three methods. **Environmental pollution**, v. 211, p. 28–37, 27 dez. 2015.

CHEN, M.; HUR, J. Pre-treatments, characteristics, and biogeochemical dynamics of dissolved organic matter in sediments: a review. **Water Research**, v. 79, p. 10–25, 2015.

CHOUERI, R. B.; CESAR, A.; ABESSA, D. M. S.; TORRES, R. J.; MORAIS, R. D.; RIBA, I.; PEREIRA, C. D. S.; NASCIMENTO, M. R. L.; MOZETO, A. A.; DELVALLS, T. A. Development of site-specific sediment quality guidelines for North and South Atlantic littoral zones: comparison against national and international sediment quality benchmarks. **Journal of Hazardous Materials**, v. 170, n. 1, p. 320–331, 2009.

COHIDRO. **Plano integrado de recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio paraíba do sul e planos de ação de recursos hídricos das bacias afluentes**: relatório de diagnóstico, Rio de Janeiro, 2014.

CONAMA. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 344, de 25 de março de 2004, revogado pela resolução nº 421/2010. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2004.

_____. Resolução no 420, de 28 de dezembro de 2009, alterada pela Resolução no 460/2013. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2009.

_____. Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011, complementa e altera a Resolução nº 357/2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011.

DIAS, M.; PEREIRA, M.; BRASIL, B. DO. Manual de impactos ambientais: orientações básicas sobre aspectos ambientais de atividades produtivas. 1999, p. 1–297. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sqa_pnla/_arquivos/manual_bnb.pdf>. Acesso em: janeiro de 2017.

FERNANDES, G. W.; GOULART, F. F.; RANIERI, B. D.; COELHO, M. S.; DALES, K.; BOESCHE, N.; BUSTAMANTE, M.; CARVALHO, F. A.; CARVALHO, D. C.; DIRZO, R.; FERNANDES, S.; GALETTI, P. M.; MILLAN, V. E. G.; MIELKE, C.; RAMIREZ, J. L.; NEVES, A.; ROGASS, C.; RIBEIRO, S. P.; SCARIOT, A.; SOARES-FILHO, B. Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil. **Natureza & Conservação**, v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016.

FONSECA, A. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade**. 1997. 192 p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

FRIEDMAN, C. L.; LOHMANN, R. Comparing sediment equilibrium partitioning and passive sampling techniques to estimate benthic biota PCDD/F concentrations in Newark Bay, New Jersey (U.S.A.). **Environmental pollution**, v. 186, p. 172–9, mar. 2014.

GABET, V.; MIÈGE, C.; BADOS, P.; COQUERY, M.. Analysis of estrogens in environmental matrices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 11, p. 1113–1131, 2007.

IPT – INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. Plano da Bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul: trecho do estado de São Paulo (UGRHI 02): 2011-2014. Síntese. São Paulo, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, 2012.

KE, X.; GAO, L.; KUMAR, S. Toxicity identification evaluation of sediments in Liaohe River. **Marine Pollution Bulletin**, v. 93, n. 1–2, p. 259–265, 2015.

LI, Y.; ZHANG, H.; CHEN, X.; TU, C.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Distribution of heavy metals in soils of the Yellow River Delta: Concentrations in different soil horizons and source identification. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, n. 6, p. 1158–1168, 2014.

LI, Z. et al. Factors influencing phosphorus adsorption onto sediment in a dynamic environment. **Journal of Hydro-environment Research**, v. 10, p. 1–11, 2016.

LUOMA, S. N.; RAINBOW, P. S.; LUOMA, S. N. Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management. **Choice: Current Reviews for Academic Libraries**, v. 46, n. 11, p. 588, 2008. 101

MALM, O.; PFEIFFER, W. C.; FISZMAN, M.; AZCUE, J. M.. Transport and availability of heavy metals in the paraiba do sul-guandu river system, Rio de Janeiro state, Brazil. **Science of the Total Environment, The**, v. 75, n. 2–3, p. 201–209, 1988.

MARTÍNEZ-PAZ, P.; MORALES, M.; MARTÍNEZ-GUITARTE, J. L.; MORCILLO, G. Genotoxic effects of environmental endocrine disruptors on the aquatic insect *Chironomus riparius* evaluated using the comet assay. **Mutation research**, v. 758, n. 1–2, p. 41–7, 2013.

MATIC, I.; GRUJIC, S.; JAUKOVIC, Z.; LAUSEVIC, MILA. Trace analysis of selected hormones and sterols in river sediments by liquid chromatography-atmospheric pressure

chemical ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1364, p. 117–127, 2014.

MEGURO, M. **Métodos em ecologia vegetal**. São Paulo, Universidade de São Paulo, 2000.

MIGUENS, F. C.; OLIVEIRA, M. L.; FERREIRA, A. O.; BARBOSA, L. R.; MELO, E. J. T.; CARVALHO, C. E. V. Structural and elemental analysis of bottom sediments from the Paraíba do Sul River (SE, Brazil) by analytical microscopy. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 66, p. 82–96, 2016.

MONTERO, N.; BELZUNCE-SEGARRA, M. J.; MENCHACA, I.; GARMENDIA, J. M.; ETXEBARRIA, N.; NIETO, O.; FRANCO, J. Application of toxicity identification evaluation (TIE) procedures for the characterization and management of dredged harbor sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 71, n. 1–2, p. 259–268, 2013.

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

NI, Z.; WANG, S. Historical accumulation and environmental risk of nitrogen and phosphorus in sediments of Erhai Lake, Southwest China. **Ecological Engineering**, v. 79, p. 42–53, jun. 2015.

OECD – ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. **Test No. 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test**. OECD Publishing, 2011. v. 408.

PENG, J.-F.; SONG, Y.-H.; YUAN, P.; GUI, X.-Y.; QIU, G.-L. The remediation of heavy metals contaminated sediment. **Journal of hazardous materials**, v. 161, n. 2–3, p. 633–40, 30 jan. 2009.

PEREIRA, T. S.; MOREIRA, I. T. A.; OLIVEIRA, O. M. C.; RIOS, M. C.; FILHO, W. A. C. S.; ALMEIDA, M.; CARVALHO, G. C. Distribution and ecotoxicology of bioavailable metals and as in surface sediments of Paraguaçu estuary, Todos os Santos Bay, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 99, n. 1–2, p. 166–177, 2015.

PERINE, M. **Determinação do nitrogênio orgânico método de Kjeldahl**. Cambridge: Cambridge University Press, 2015.

PFEIFFER, W. C.; FISZMAN, M.; MALM, O.; AZCUE, J. M. Heavy metal pollution in the Paraíba do sul River, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 58, n. 1, p. 73–79, 1986.

PHILLIPS, B. M.; ANDERSON, B. S.; HUNT, J. W.; CLARK, S. L.; VOORHEES, J. P.; TJEERDEMA, R. S.; CASTELINE, J.; STEWART, M. Evaluation of phase II toxicity identification evaluation methods for freshwater whole sediment and interstitial water. **Chemosphere**, v. 74, n. 5, p. 648–653, 2009.

PICONE, M.; BERGAMIN, M.; LOSSO, C.; DELANEY, E.; NOVELLI, A. A.; GHIRARDINI, A. V. Assessment of sediment toxicity in the Lagoon of Venice (Italy) using a multi-species set of bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, p. 32–44, 2016.

POMPÊO, M.; PADIAL, P. R.; MARIANI, C. F.; SILVA, S. C.; CARLOS, V. M.; SILVA, D. C. V. R.; PAIVA, T. C. B.; BRANDIMARTE, A. L. Ecological risk index for aquatic pollution control: a case study of coastal water bodies from the Rio de Janeiro State, southeastern Brazil. **Geochimica Brasiliensis**, v. 27, n. 2, p. 104–119, 1 dez. 2013.

RICO-RICO, A.; TEMARA, A.; HERMENS, J. L. M. Equilibrium partitioning theory to predict the sediment toxicity of the anionic surfactant C(12)-2-LAS to *Corophium volutator*. **Environmental pollution**, v. 157, n. 2, p. 575–81, fev. 2009.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à química ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SALGUEIRO-GONZÁLEZ, N.; TURNES-CAROU, I.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Analysis of endocrine disruptor compounds in marine sediments by in cell clean up-pressurized liquid extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 852, p. 112–120, 2014.

SEGURA, F. R.; NUNES, E. A.; PANIZ, F. P.; PAULELLI, A. C. C.; RODRIGUES, G. B.; BRAGA, G. U. L.; FILHO, W. R. P.; BARBOSA, F.; CERCHIARO, G.; SILVA, F. F.;

BATISTA, B. L. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813–825, 2016.

SILVA, B. F.; JELIC, A.; LÓPEZ-SERNA, R.; MOZETO, A. A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. **Chemosphere**, v. 85, n. 8, p. 1331–1339, 2011.

SILVA, M. V. G.; PINTO, M. S. C.; CARVALHO, P. C. S. Major, trace and REE geochemistry of recent sediments from lower Catumbela River (Angola). **Journal of African Earth Sciences**, v. 115, p. 203–217, mar. 2016.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SNIS – SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. **Programa dos planos municipais de saneamento básico no Brasil**. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/>>. Acesso em fevereiro de 2017.

SOUZA, D. M.; BASTOS, I. **Secretaria interdita empresa por vazamento de produto tóxico no Rio Paraíba do Sul**. Disponível em: <<https://extra.globo.com/noticias/rio/secretaria-interdita-empresa-por-vazamento-de-produto-toxico-no-rio-paraiba-do-sul-613961.html>>. Acesso em 21/11/2017.

STEENBOCK, W.; VEZZANI, F. M. **Agrofloresta aprendendo a produzir com a natureza**. Curitiba, 2013.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Edgard Blucher, 1973.

TOLEDO, M. C. M. DE. **Sedimentos e rochas sedimentares [vídeo-aula]**. Disponível em: <<http://eaulas.usp.br/portal/video.action?idItem=384>>. Acesso em: 10 julho de 2015.

TRINDADE, M. **Nutrientes em sedimentos da Represa do Broa: Itirapina, SP**. São carlos: Universidade Federal de São Carlos, 1980.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **METHOD 3051APhD Proposal**, 2015.

YU, J.; SHIMING, D.; JICHENG, Z.; CHENGXIN, F.; QIUWEN, C.; HONGBIN, Y.; LEI, Z.; YINLONG, Z. Evaluation of simulated dredging to control internal phosphorus release from sediments: Focused on phosphorus transfer and resupply across the sediment-water interface. **Science of The Total Environment**, v. 592, p. 662–673, 2017.

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

ZHANG, Z.; JUYIING, L.; MAMAT, Z.; QINGFU, Y. Sources identification and pollution evaluation of heavy metals in the surface sediments of Bortala River, Northwest China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 94–101, abr. 2016.

Anexo

ANEXO A – Resultados da caracterização, avaliação toxicológica e metais biodisponíveis nas amostras de sedimento coletadas em trecho paulista do rio Paraíba do Sul, a montante (M) e a jusante (J) das cidades de Lorena, Cachoeira Paulista e Cruzeiro

	pH	Cond. (µS/cm)	O.D.	(% S + A)	% M.O.	% C.O.T.	N total (mg/kg)	P total (mg/kg)	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb	Toxicidade	
Agosto de 2016																
Lorena	M	7,1 ± 0,3	236 ± 66	4,4 ± 0,3	38,5 ± 3,2	11,5 ± 1,0	6,8 ± 0,6	1031 ± 168	963 ± 300	296 ± 32	13453 ± 796	7,4 ± 0,5	17 ± 6	55 ± 5	8,2 ± 2,2	não tóxico
	J	7,2 ± 0,1	567 ± 94	4,0 ± 0,2	33,4 ± 0,7	12,3 ± 0,4	7,3 ± 0,3	1045 ± 46	923 ± 152	369 ± 15	14246 ± 412	7,7 ± 0,2	22 ± 19	62 ± 6	12,5 ± 0,2	não tóxico
Cachoeira Paulista	M	6,6 ± 0,3	327 ± 55	0,8 ± 0,2	31,2 ± 4,7	11,2 ± 0,9	6,6 ± 0,5	732 ± 152	1870 ± 71	205 ± 39	12185 ± 2485	6,5 ± 1,4	16 ± 9	47 ± 9	11,4 ± 2,3	não tóxico
	J	6,3 ± 0,4	143 ± 49	0,7 ± 0,1	37,3 ± 2,0	8,4 ± 0,5	5,0 ± 0,3	496 ± 98	1481 ± 99	172 ± 26	11744 ± 841	6,6 ± 0,2	18 ± 12	45 ± 3	11,2 ± 0,2	não tóxico
Cruzeiro	M	6,4 ± 0,2	107 ± 25	1,6 ± 0,0	28,5 ± 2,2	10,0 ± 0,7	5,9 ± 0,4	783 ± 29	882 ± 60	249 ± 30	9496 ± 356	6,0 ± 1,1	287 ± 199	187 ± 130	9,4 ± 0,7	não tóxico
	J	6,9 ± 0,1	710 ± 95	1,1 ± 0,6	43,5 ± 3,7	10,0 ± 0,7	5,9 ± 0,4	1159 ± 117	918 ± 231	456 ± 46	18015 ± 1366	8,9 ± 0,8	29 ± 12	72 ± 12	15,9 ± 1,1	não tóxico
Novembro de 2016																
Lorena	M	7,2 ± 0,8	1150 ± 132	1,9 ± 0,2	30,4 ± 3,3	8,6 ± 0,9	5,0 ± 0,5	775 ± 66	1476 ± 254	376 ± 20	11607 ± 1100	5,4 ± 0,9	30 ± 30	50 ± 13	12,0 ± 1,4	não tóxico
	J	6,1 ± 0,2	180 ± 32	1,6 ± 0,0	24,8 ± 1,5	7,0 ± 0,3	4,1 ± 0,2	538 ± 20	909 ± 274	111 ± 6	8247 ± 793	4,0 ± 0,5	55 ± 20	42 ± 4	10,6 ± 1,8	não tóxico
Cachoeira Paulista	M	6,6 ± 0,2	363 ± 110	1,7 ± 0,9	21,5 ± 1,6	7,5 ± 0,8	4,4 ± 0,5	494 ± 115	1047 ± 340	117 ± 10	6988 ± 204	3,1 ± 0,3	14 ± 14	20 ± 6	6,5 ± 1,1	não tóxico
	J	6,5 ± 0,2	450 ± 95	1,9 ± 0,8	30,5 ± 1,3	8,4 ± 0,3	4,9 ± 0,2	713 ± 19	1452 ± 405	200 ± 21	11266 ± 982	4,8 ± 0,4	8 ± 2	30 ± 1	10,6 ± 1,4	não tóxico
Cruzeiro	M	6,6 ± 0,2	153 ± 20	2,7 ± 1,1	27,8 ± 1,1	6,5 ± 0,5	3,8 ± 0,3	310 ± 37	781 ± 200	173 ± 10	9854 ± 501	4,1 ± 0,2	6 ± 1	22 ± 1	6,8 ± 0,3	não tóxico
	J	6,5 ± 0,1	360 ± 66	1,6 ± 0,5	30,5 ± 0,7	8,0 ± 0,6	4,7 ± 0,3	591 ± 111	1059 ± 168	226 ± 2	11508 ± 459	5,2 ± 0,2	26 ± 13	38 ± 6	11,6 ± 1,4	não tóxico