

**UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SUSTENTABILIDADE DE
ECOSSISTEMAS COSTEIROS E MARINHOS
MESTRADO EM ECOLOGIA**

FÁBIO REIS COELHO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
ECOTOXICOLÓGICA DAS ÁGUAS
DOS CANAIS DE DRENAGEM URBANA DE SANTOS (São Paulo, Brasil)**

Santos-SP

2013

FÁBIO REIS COELHO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
ECOTOXICOLÓGICA DAS ÁGUAS
DOS CANAIS DE DRENAGEM URBANA DE SANTOS (São Paulo, Brasil)**

Dissertação apresentada à Universidade Santa Cecília como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, sob orientação da: Profa. Dra. Luciana Lopes Guimarães e Prof. Dr. Aldo Ramos Santos.

Santos-SP

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que a reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da base.

COELHO, F.R. Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Ecotoxicológica das Águas dos Canais de Drenagem Urbana de Santos (São Paulo, Brasil). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Santa Cecília. Santos, 2013.

Coelho, Fábio Reis.

Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Ecotoxicológica das Águas dos Canais de Drenagem Urbana de Santos (São Paulo, Brasil).

Fábio Reis Coelho, 2013.

N. fls. 69.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Luciana Lopes Guimarães e Prof. Dr. Aldo Ramos Santos

Dissertação de Mestrado – Universidade Santa Cecília,
Programa de Pós Graduação em Ecologia, Santos, SP, 2013.

1. Santos; 2. Canais de drenagem urbana; 3. Qualidade da água; 4. Contaminação das praias; 5. Ecotoxicologia.

I – Guimarães, Luciana Lopes. II – Santos, Aldo Ramos. III – Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Ecotoxicológica das Águas dos Canais de Drenagem Urbana de Santos (São Paulo, Brasil).

FÁBIO REIS COELHO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
ECOTOXICOLÓGICA DAS ÁGUAS
DOS CANAIS DE DRENAGEM URBANA DE SANTOS (São Paulo, Brasil).**

**Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em
Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos para obtenção
do título de mestre em Ecologia à Universidade Santa Cecília.**

Data da aprovação _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Profa. Dra. Luciana Lopes Guimarães

Prof. Dr. Aldo Ramos Santos

Prof. Dr. Walber Toma

Prof. Dr. Fabiano Pereira do Amaral

*Agradeço ao meu Pai e à minha Mãe
pelos sacrifícios que sempre fizeram em
razão da minha educação e pelo incentivo
que sempre me deram.
Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo a Deus por aquilo que ele tem proporcionado na minha vida, não sou nada sem Ele.

Aos meus amores incondicionais, meus pais Adelson e Mirian, meu filho Enzo, minhas irmãs Érika e Thalita, meus cunhados André Abreu e André Tavares, meus sobrinhos Letícia, Andrezinho e Júlia e à minha namorada Maitane. À minha orientadora Prof^a. Dra. Luciana Lopes Guimarães, pela sabedoria, paciência e dedicação.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Aldo Ramos Santos, por sua sabedoria e experiência.

A toda equipe do laboratório de Ecotoxicologia da Unisanta, em especial ao Fernando e ao Fábio, que sempre me auxiliaram na execução dos ensaios.

Ao pessoal do laboratório de Química da Unisanta, pela atenção e apoio.

A todos os meus professores e a toda equipe da Pós-Graduação.

E a todos que participaram diretamente e indiretamente para que este trabalho fosse realizado.

RESUMO

Os canais de drenagem da cidade de Santos são os responsáveis pelo escoamento das águas pluviais para o mar, porém existem fatores que podem comprometer a qualidade da água que escoam nesses canais e, com isso, afetar a balneabilidade das praias de Santos. O presente estudo consistiu em verificar a qualidade da água dos sete canais de drenagem urbana que deságuam na orla da praia de Santos-SP, antes de atingir o mar, por meio de análises químicas, físico-químicas, ecotoxicológicas e microbiológicas, em período de alta e baixa pluviosidade. As análises revelaram que as caracterizações para a maioria das amostras analisadas, encontravam-se em desacordo com os limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 e 430/11. Os resultados obtidos pelos parâmetros analisados no presente estudo sugerem uma contribuição de esgoto de origem doméstica nestes canais de drenagem, o que conseqüentemente pode afetar a qualidade ambiental das praias de Santos.

Palavras-chave: Santos. Canais de drenagem urbana. Qualidade da água. Contaminação das praias. Ecotoxicologia.

ABSTRACT

The drainage channels in the city of Santos are responsible for stormwater runoff into the sea, however, there are factors that can compromise the quality of water flowing in these channels and thus affect the bathing beaches of Santos. The aim of the present study was to evaluate the water quality of the seven channels that drain on the beachfront of Santos, before reaching the sea, through some chemical, physical-chemical, microbiological and ecotoxicological analysis, in periods of high and low precipitation. The results obtained from the analysis revealed that most of the samples were in disagreement with the limits established by CONAMA Resolution 357/05 e 430/11. The results obtained through the parameters analyzed in this study suggest a contribution of domestic sewage, threatening the quality of bathing waters of the canals and beaches of Santos.

Keywords: Santos. Urban drainage channels. Water quality. Contamination of beaches. Ecotoxicology

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|------------|---|----|
| FIGURA 1. | Mapa de Santos com destaque dos canais de drenagem..... | 16 |
| FIGURA 2. | Índice Pluviométrico de Santos nos dias que precederam às coletas..... | 25 |
| FIGURA 3. | Mapa da área de estudo, destacando os pontos de coleta dos canais (01-07)..... | 25 |
| FIGURA 4. | Imagem do canal, destacando os pontos das coletas..... | 26 |
| FIGURA 5. | Placa de Petri contendo o meio de cultura Ágar Biochrome Coliformes, destacando colônias de <i>E. coli</i> e outros coliformes..... | 30 |
| FIGURA 6. | <i>Lytechinus variegatus</i> (Echinodermata, Echinoidea)..... | 31 |
| FIGURA 7. | Ovos de <i>Lytechinus variegatus</i> | 36 |
| FIGURA 8. | Aplicação de injeção de KCl 0,5 M..... | 37 |
| FIGURA 9. | Fêmeas de <i>Lytechinus variegatus</i> liberando os óvulos..... | 37 |
| FIGURA 10. | Coleta de espermatozóides de <i>Lytechinus variegatus</i> | 38 |
| FIGURA 11. | Espermatozóides de <i>Lytechinus variegatus</i> acondicionados em um béquer envolto com gelo..... | 39 |
| FIGURA 12. | Desenvolvimento embriolarval de <i>Lytechinus variegatus</i> (40X)..... | 40 |
| FIGURA 13. | Análise de Surfactantes aniônicos (expressos como MBAS) das amostras coletadas..... | 47 |

| | | |
|------------|--|----|
| FIGURA 14. | Resultados das análises de nitrogênio amoniacal..... | 49 |
| FIGURA 15. | Resultados das análises de nitrogênio-nitrito..... | 51 |
| FIGURA 16. | Resultados das análises de nitrogênio-nitrato..... | 52 |
| FIGURA 17. | Resultados das análises de fosfato..... | 54 |
| FIGURA 18. | Resultados das análises de E. coli..... | 55 |
| FIGURA 19. | Resultados das análises de coliformes totais..... | 56 |
| FIGURA 20. | Valores médios da toxicidade aguda das amostras dos canais no na taxa de fertilização dos óvulos de <i>L. variegatus</i> | 58 |
| FIGURA 21. | Valores médio de Toxicidade crônica das amostras dos canais no desenvolvimento embriolarval de <i>L. variegatus</i> | 60 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|---|----|
| TABELA 1. | Principais constituintes de um sistema de esgoto urbano..... | 19 |
| TABELA 2. | Localização geográfica dos pontos de coleta..... | 26 |
| TABELA 3. | Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas no período de alta pluviosidade..... | 43 |
| TABELA 4. | Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas no período de baixa pluviosidade..... | 44 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| AP | Alta Pluviosidade |
| BP | Baixa Pluviosidade |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| EPC | Estação de Pré-Condicionamento |
| L | Litro |
| mg | Miligrama |
| mL | Mililitro |
| $\mu\text{S/cm}$ | MicroSiemens/cm |
| MBAS | Substância ativa azul de metileno |
| NH_3 | Amônia |
| NH_4^+ | Cátion amônio |
| NO_2^- | Nitrito |
| NO_3^- | Nitrato |
| N- NH_3 | Nitrogênio amoniacal |
| N- NO_2^- | Nitrogênio-Nitrito |
| N- NO_3^- | Nitrogênio-Nitrato |
| NTU | Unidade nefelométrica de turbidez |
| PO_4^{3-} | Fosfato |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| OD | Oxigênio dissolvido |
| UFC | Unidade formadora de colônias |

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

| | | |
|-----|---|----|
| 1.1 | Histórico da construção dos canais de drenagem da cidade de Santos..... | 15 |
| 1.2 | Importância das águas..... | 17 |
| 1.3 | Saneamento básico e sua importância para a saúde da humanidade..... | 20 |
| 1.4 | Legislação ambiental aplicada ao controle de qualidade das águas..... | 21 |

2. OBJETIVOS

| | | |
|-----|-----------------------------|----|
| 2.1 | Objetivo geral | 23 |
| 2.1 | Objetivos específicos | 23 |

3. MATERIAL E MÉTODOS

| | | |
|-------|--|----|
| 3.1 | Coleta..... | 24 |
| 3.2 | Parâmetros físico-químicos..... | 27 |
| 3.3 | Determinação de nitrito e nitrato..... | 27 |
| 3.4 | Determinação de nitrogênio amoniacal..... | 28 |
| 3.5 | Determinação de surfactantes aniônicos..... | 28 |
| 3.6 | Determinação de fosfato..... | 29 |
| 3.7 | Determinação de <i>Escherichia coli</i> e outros coliformes..... | 29 |
| 3.8 | Ensaio de toxicidade..... | 31 |
| 3.8.1 | Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo..... | 31 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.8.2 | Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico..... | 36 |
| 3.9 | Análise estatística..... | 40 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | |
| 4.1 | Resultados das análises químicas e físico-químicas..... | 26 |
| 4.1.1 | Resultados das análises físico-químicas..... | 42 |
| 4.1.2 | Resultados das análises de surfactantes..... | 47 |
| 4.1.3 | Resultados das análises de nitrogênio amoniacal | 49 |
| 4.1.4 | Resultados das análises de nitrito..... | 51 |
| 4.1.5 | Resultados das análises de nitrato..... | 52 |
| 4.1.6 | Resultados das análises de fosfato..... | 54 |
| 4.2 | Resultados das análises microbiológicas..... | 55 |
| 4.2.1 | Resultados das análises de <i>E. coli</i> | 55 |
| 4.2.2 | Resultados das análises de coliformes totais..... | 56 |
| 4.3 | Resultados dos ensaios de toxicidade..... | 58 |
| 4.3.1 | Resultados dos ensaios de toxicidade aguda..... | 58 |
| 4.3.2 | Resultados das análises de toxicidade crônica..... | 60 |
| 5. | CONCLUSÃO..... | 61 |
| 6. | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 61 |
| 7. | REFERÊNCIAS..... | 62 |
| 8. | ANEXO | 68 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da construção dos canais de drenagem da cidade de Santos

A cidade de Santos está localizada na região metropolitana da Baixada Santista, na costa central do estado de São Paulo, sendo uma das mais antigas do Brasil, fundada por volta de 1540 com a chegada dos colonizadores portugueses (SANTOS CIDADE, 2012). Com uma população de 419.757 habitantes (IBGE, 2010), é a cidade mais populosa da baixada Santista, com topografia plana, clima quente e chuvoso, além de ser considerada um balneário turístico com o maior porto da América Latina.

A partir do crescimento do porto, que teve início em 1888, houve um aumento expressivo na população, principalmente de trabalhadores portuários. No entanto, a infraestrutura de saneamento, a coleta do lixo e o abastecimento de água não acompanharam o desenvolvimento e o crescimento populacional da época. Este cenário gerou condições favoráveis ao desenvolvimento de várias doenças infecciosas como, por exemplo, a febre amarela. Em 1890, Santos já totalizava uma população de 50 mil habitantes, porém, a ausência de um sistema de drenagem eficiente, mediante a estruturação de canais, contribuiu para que em menos de uma década, metade da população local fosse dizimada em consequência de enfermidades provenientes da falta de saneamento (SANTOS CIDADE, 2012).

A criticidade desta situação levou o engenheiro sanitário Francisco Saturnino Rodrigues de Brito a idealizar e projetar o plano de saneamento da cidade de Santos que previa a construção dos canais de drenagem, com a separação total entre os esgotos e a rede pluvial. O projeto previu a separação absoluta entre os despejos domésticos e a rede pluvial, com a construção de canais de drenagem prolongados de mar a mar (SARTOR *et al.*, 2000.; DEGASPARI *et al.*, 2000; PARENTE *et al.*, 2004). As obras foram iniciadas em 1906 e inauguradas oficialmente em 1914. Porém, após a conclusão dos canais de drenagem, a qualidade da água despejada no mar comprometia a balneabilidade das praias de Santos.

Nas décadas de 1970 e 1980, a população de São Paulo pouco frequentava as praias de Santos devido aos altos índices de poluição orgânica

e contaminação microbiológica. No final da década de 1980, verificou-se que uma das principais fontes de contaminação das praias estava, de fato, relacionada aos canais, pois com o crescimento da cidade e o processo de urbanização, os mesmos receberam diversas ligações de esgoto clandestinas (SARTOR *et al.*, 2000; DEGASPARI *et al.*, 2000) bem como a contribuição de poluição difusa.

Na orla da praia de Santos existem sete canais de drenagem que escoam para as praias (Figura 1), os quais em 1992 receberam a instalação de um sistema de comporta em seis dos sete canais. Quando essas comportas estão fechadas, as águas dos canais são conduzidas por uma tubulação para a Estação de Pré-Condicionamento de Esgoto (EPC) e, através de um Emissário Submarino, são lançadas ao mar juntamente com os efluentes provenientes do esgoto doméstico. No entanto, em períodos de maior pluviosidade as comportas são remotamente abertas, e as águas pluviais contidas nos canais juntamente ao material dissolvido nelas são liberadas diretamente para o mar (AMBROZEVICIUS, 2010). No estudo realizado por Aguilera (2008) foi demonstrado que existe contribuição significativa desses corpos d'água (canais) na redução da qualidade da água das praias de Santos, durante as primeiras horas após a abertura das comportas.

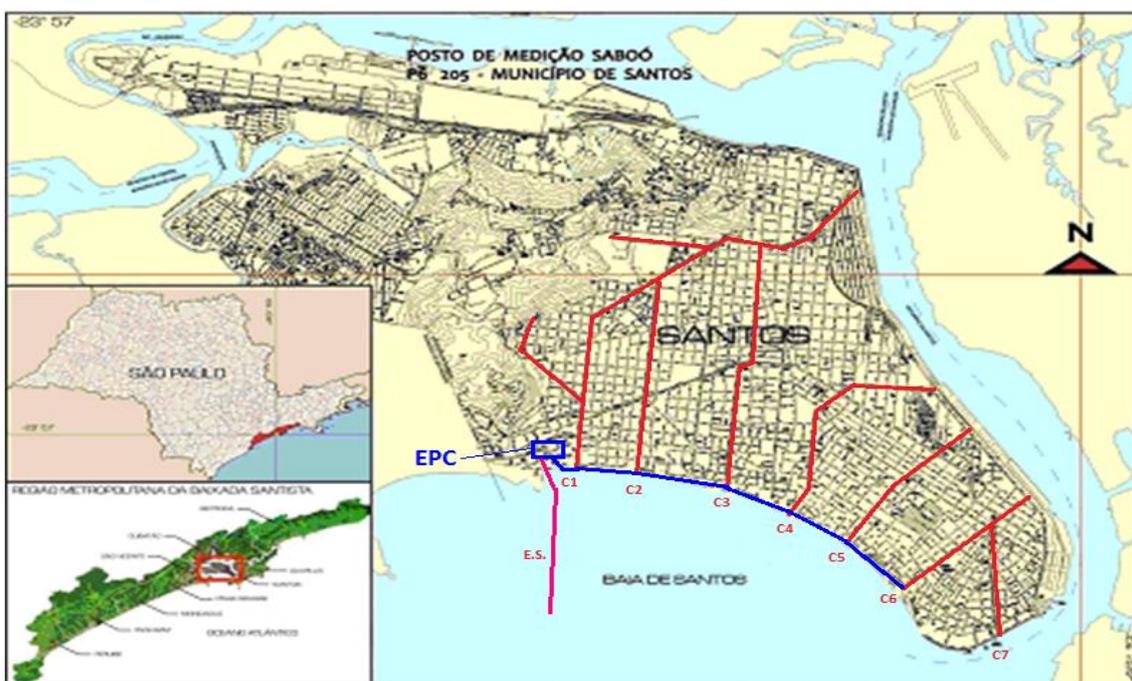


Figura 1- Mapa de Santos com destaque dos canais de drenagem.

Fonte: Adaptado de Freitas & Muniz (2012)

1.2 A importância das águas

A água é um recurso natural extremamente essencial para a sobrevivência de todas as espécies que habitam a terra. No nosso planeta, observa-se que cerca de 3/4 de sua superfície é composta de água, sendo que esta ainda se divide em água salgada, que corresponde a 97 % do total disponível, e água doce, com apenas 3 %; dessa pequena porção de água doce, tem-se que somente 1 % dela é potável, ou seja, apta para o consumo humano, uma vez que o restante encontra-se em calotas polares e nas geleiras (PEIXOTO FILHO & BONDAROVSKY, 2000). Apesar de todos os esforços para armazenar e diminuir o seu consumo, a água está se tornando, cada vez mais, um bem escasso, e sua qualidade se deteriora com rapidez (FREITAS & ALMEIDA, 2001).

Os ecossistemas aquáticos são extremamente vulneráveis aos impactos provocados pela atividade humana, o que pode ser verificado através de análises das características das águas continentais localizadas em áreas com diferentes graus de concentração humana (CAMARGO *et al.*, 1995). O destino final do esgoto doméstico e industrial, a disposição inadequada de resíduos sólidos urbanos e industriais e postos de combustíveis, representam fontes de contaminação das águas, por bactérias, vírus patogênicos, parasitas, substâncias orgânicas e inorgânicas (SILVA & ARAUJO, 2003).

A poluição das águas genericamente decorre da adição de substâncias ou de formas de energia que alterem as características físicas e químicas diretamente ou indiretamente, de tal maneira que inviabilize a utilização das suas águas para usos benéficos. Segundo Dahi (1992), a proteção de contaminações no fornecimento de água é a primeira linha de defesa.

Torna-se importante ressaltar a existência de duas formas distintas, pelas quais as águas poluídas atingem um determinado corpo receptor. A primeira, denominada fonte ou poluição pontual, refere-se à poluição decorrente de ações modificadoras localizadas. É o caso, por exemplo, da desembocadura de um rio, de efluentes de uma estação de tratamento de esgotos domésticos ou industriais, ou mesmo, a saída de um tronco coletor de esgotos domésticos sem tratamento, ou ainda a saída no mar, de um emissário

submarino. A segunda, poluição difusa, se dá pela ação das águas da chuva ao lavarem e transportarem a poluição nas suas diversas formas espalhadas sobre a superfície do terreno (urbano ou não) para os corpos receptores. A poluição difusa alcança os rios, lagoas, baías, canais, etc., distribuída ao longo das margens, não se concentrando em um único local como é o caso da poluição pontual.

O grau de poluição das águas é medido através de características físicas, químicas e biológicas das impurezas existentes, que são identificadas por parâmetros de qualidade.

O termo “Qualidade das águas” é utilizado para descrever as condições da água, incluindo as análises das características químicas, físicas e biológicas, normalmente empregado no contexto de sua adequação para um propósito em particular, como água para beber, para contato ou pesca (JOHNSON, 2007; DIERSING,2013).

Alguns dos principais constituintes do esgoto de um sistema de esgoto urbano, fontes em potencial e os seus efeitos na água estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais constituintes de um sistema de esgoto urbano.

| CONSTITUINTE | FONTE EM POTENCIAL | EFEITOS NA ÁGUA |
|--|---|---|
| Substâncias com demanda de oxigênio | Sobretudo materiais orgânicos em especial fezes e urina humanos | Consumem oxigênio dissolvido |
| Orgânicos refratários | Resíduos industriais, produtos de limpeza | Tóxicos à vida aquática |
| Vírus | Resíduos humanos | Causam doenças (possivelmente câncer); principal obstáculo contra a reciclagem de esgotos para sistemas hídricos) |
| Detergentes | Detergentes domésticos | Propriedades organolépticas da água, impedem a remoção de graxas e óleos, tóxicos à vida aquática |
| Fosfatos | Detergentes | Nutrientes de algas |
| Graxas e óleos | Cozinha, processamento de alimentos, resíduos industriais | Propriedades organolépticas da água, prejudiciais a parte da vida aquática |
| Sais | Resíduos humanos e industriais, abrandadores de água | Aumentam a salinidade da água |
| Metais | Resíduos industriais, laboratórios químicos | Toxicidade |
| Agentes quelantes | Alguns detergentes, resíduos industriais | Solubilização e transporte de metais |
| Sólidos | Todas as fontes | Propriedades organolépticas da água, prejudiciais à vida aquática |

Fonte: Manahan (2013).

1.3 O saneamento básico e a sua importância para a saúde humana

Entende-se por saneamento básico, o conjunto de medidas que visa preservar ou modificar as condições do meio ambiente, com a finalidade de prevenir doenças e promover a saúde (ROUQUAYROL e ALMEIDA FILHO, 1999).

Saneamento significa higiene e limpeza e, dentre as principais atividades relacionadas estão: a coleta e o tratamento de resíduos das atividades humanas, tanto sólidos quanto líquidos (lixo e esgoto); a prevenção da poluição das águas de rios, mares, canais e outros mananciais; a garantia da qualidade da água utilizada pelas populações para consumo, bem como seu fornecimento de qualidade; além do controle de vetores. Incluem-se ainda no campo de atuação do saneamento a drenagem das águas das chuvas, a prevenção de enchentes e os cuidados com as águas subterrâneas (CAVINATTO, 1992).

A descarga sem tratamento de esgoto domiciliar em rios, represas, estuários, mares e em canais de drenagem (caso da cidade de Santos) é um grave problema para a qualidade da água.

O Ministério das Cidades afirma que no Brasil, cerca de 60 milhões de brasileiros (9,6 milhões de domicílios urbanos) não são atendidos pela rede de coleta de esgoto e, destes, aproximadamente 15 milhões (3,4 milhões de domicílios) não têm acesso à água encanada. Vale ressaltar que apenas 25% do esgoto gerado é tratado, sendo que o restante é despejado “*in natura*” nos rios ou no mar. Com os baixos índices de tratamento, 65% das internações hospitalares no País são atribuídas às doenças transmitidas pela água como, por exemplo, disenterias bacterianas, hepatite A, parasitoses como a giardíase e ascaridíase, dentre outras doenças transmitidas pela rota oral-fecal. Além disso, mais de cinco milhões de pessoas morrem por ano no mundo devido às doenças transmitidas pela água (BRASIL, 2005). Evitar a disseminação de doenças veiculadas por detritos na forma de esgotos e lixo é uma das principais funções do saneamento básico (CAVINATTO, 1992).

1.4 Legislação ambiental aplicada ao controle de qualidade das águas

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), constituído pelas câmaras técnicas, grupos de Trabalho e as Plenárias, tem como principal instrumento a elaboração de resoluções. Por meio desses dispositivos são estabelecidas normas, critérios e padrões relativos ao controle e à manutenção da qualidade do meio ambiente. Com relação ao controle da poluição hídrica o CONAMA estabeleceu em 1986 a Resolução 20, esta Resolução é um aperfeiçoamento da Portaria 13, de 15 de janeiro de 1976 do Ministério do Interior. Esta Resolução fixou, pela primeira vez, padrões específicos de qualidade das águas para fins de balneabilidade ou recreação de contato primário e dividiu as águas do território nacional em águas doces (salinidade < 0,5%), salobras (salinidade entre 0,5% e 30%) e salinas (salinidade > 30%). Em função dos usos previstos, foram criadas nove classes. Dos usos preponderantes das classes relativas à água doce, em que Classe Especial pressupõe os usos mais nobres, e a Classe 4, os menos nobres. As Classes 5 e 6 são relativas às águas salinas e as Classes 7 e 8 às águas salobras.

A Resolução CONAMA 274, de 29 de novembro de 2000, especifica critérios sobre balneabilidade de águas, sendo esta definida como o estudo da qualidade das águas destinadas à recreação de contato primário. Recreação de contato primário deve ser entendida como um contato direto e prolongado com a água (natação, mergulho, esquiaquático, etc.), onde a possibilidade de ingerir quantidades significativas de água é expressiva. O estudo da balneabilidade de uma praia, por exemplo, compreende a medida das condições sanitárias, objetivando a sua classificação em PRÓPRIA e IMPRÓPRIA para o banho, em conformidade com as especificações pré determinadas pela Resolução supracitada.

O processo de revisão da Resolução 20/86, gerou a Resolução 357, de 17 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Essa legislação vem sendo constantemente atualizada – alterada por meio das Resoluções CONAMA 370/06, 397/08, 410/09 e 430/11 e,

atualmente, determina em âmbito nacional, a classificação dos corpos de água, dividindo as águas em três tipos:

- I. águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 %
- II. águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 % e inferior a 30 %
- III. águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 %

No presente estudo, as águas dos canais de Santos foram classificadas como água doce de classe 2, conforme Decreto Estadual nº10755/77 (SP), as quais podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;
- b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) à pesca amadora;
- d) à recreação de contato secundário;
- e) à dessedentação de animais.

Deve-se ressaltar que a classificação do tipo de água (água doce, salobra ou salina) poderá sofrer alterações de acordo com os valores de salinidade encontrados nas diferentes épocas do ano.

Diante do exposto, o presente estudo visou analisar a qualidade das águas dos canais de drenagem urbana de Santos em período de alta e baixa pluviosidade. Este diagnóstico, que contempla análises físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicológicas, possibilitará determinar uma possível influência dos canais na qualidade ambiental das praias, bem como gerar subsídios para a intervenção do poder público no sentido de minimizar os problemas relacionados à saúde ambiental do Município.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a qualidade das águas dos sete canais de drenagem urbana da cidade de Santos (São Paulo, Brasil), em período de alta e baixa pluviosidade.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterização físico-química, através das análises das variáveis: (temperatura, salinidade, pH, OD, cor turbidez e condutividade) ;
- Caracterização química, através das análises das variáveis: (nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato, fosfato e surfactantes aniônicos);
- Caracterização microbiológica, através da análise de bactérias indicadores de contaminação fecal (coliformes totais e *Escherichia coli*);
- Analisar os efeitos ecotoxicológico por meio de ensaios de toxicidade com ouriço-do-mar (*Lytechinus variegatus*) (agudo e crônico);
- Estabelecer comparações entre os períodos de alta e baixa pluviosidade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta

Inicialmente, em Setembro de 2012, realizou-se uma coleta para ensaios preliminares para definição dos parâmetros a serem analisados, e as condições de coleta no presente trabalho.

As coletas foram então realizadas em duas etapas: uma coleta num período de alta pluviosidade (AP), realizada no mês de Janeiro de 2013 e, outra coleta num período de baixa pluviosidade (BP), realizada no mês de Maio de 2013 (Figura 2).

As amostras de água dos canais 01 a 06 foram coletadas junto à grelha e aproximadamente a 1 metro da comporta de cada canal, na entrada da tubulação que vai para EPC, com exceção do canal 07, uma vez que o mesmo não apresenta sistema de comportas, e as amostras deste canal foram então coletadas no ponto extremo do canal, a céu aberto, antes do mar conforme coordenadas de cada ponto obtidas com auxílio de um GPS “Garmin (GPS76) marine navigator“ (Tabela 2). Os pontos de coleta estão ilustrados na figura 3.

Para cada ponto de coleta foram coletados 3 amostras de 1 litro de água, sendo acondicionadas em garrafa âmbar, à temperatura (+/-5°C), até o momento do processamento no laboratório (Figura 4).

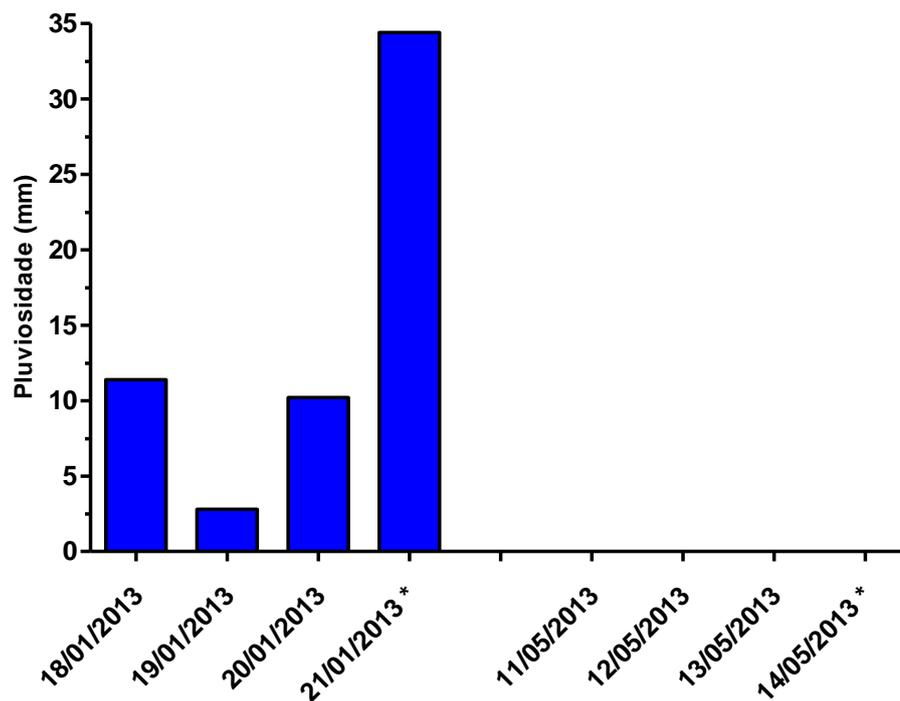


Figura 2 - Índice Pluviométrico de Santos nos dias que precederam à coleta das amostras. * data das coletas

Fonte: Prefeitura Municipal de Santos, Defesa Civil, (2013)

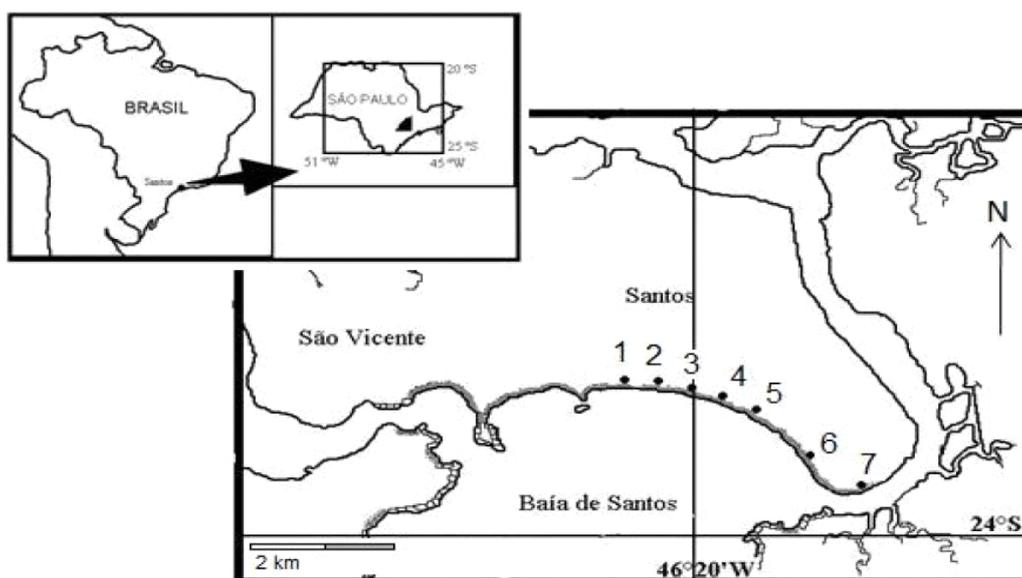


Figura 3 - Mapa da área de estudo, destacando os pontos de coleta dos canais (01-07)

Fonte: Modificado de AMBROZEVICIUS & ABESSA (2008)

Tabela 2 - Localização geográfica dos pontos de coleta.

| Pontos de coleta | Localização Geográfica |
|------------------|--|
| Canal 01 | S 23° 58' 07,46'' O 46° 20' 44,63'' |
| Canal 02 | S 23° 58' 09,73'' O 46° 20' 21,52'' |
| Canal 03 | S 23° 58' 16,97'' O 46° 19' 45,89'' |
| Canal 04 | S 23° 58' 28,26'' O 46° 19' 18,12'' |
| Canal 05 | S 23° 58' 41,53'' O 46° 18' 56,94'' |
| Canal 06 | S 23° 59' 02,82'' O 46° 18' 34,90'' |
| Canal 07 | S 23° 59' 22,89'' O 46° 17' 57,39'' |



Figura 4 - Imagem do canal 03, destacando os pontos das coletas.

3.2 Parâmetros físico-químicos

Em todas as amostras das águas dos canais os seguintes parâmetros físico-químicos foram analisados: temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD), cor, turbidez e condutividade. A temperatura e o (OD) foram medidos em campo com o uso de equipamento (Instrutherm, modelo MO-910) portátil. A salinidade, o pH, cor, turbidez e a condutividade foram determinados com a utilização dos aparelhos, refratômetro de salinidade (Shibuya[®], modelo 145), pHmetro (micronal[®], modelo B474), Medidor de cor de bancada, c/ disco colorimétrico estilo Hellige, mod.: NesslerQuanti, n^o série: 991, marca: Policontrol, Medidor de Turbidez portátil, mod.: AP2000, n^o serie: 2188, marca: Policontrol e oxímetro (WTW[®], modelo OXI-315i), respectivamente.

3.3 Determinação de nitrito e nitrato

Nitratos e nitritos foram determinados pelo método do N-(1-naftil)-etilenodiamina (NTD), adaptado do Standard Methods 21^a ed. 4500 B, 4-118 (2005)., através da utilização de kits adquiridos do fabricante Alfakit (Santa Catarina, Brasil). As determinações foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante, efetuando-se a leitura em espectrofotômetro (CELM[®], modelo E-225-D) em comprimento de onda (λ) igual a 535 nm.

Os teores de nitrogênio-nitrato (N-NO₃⁻) das amostras foram calculados por meio de curva construída a partir de solução padrão de nitrato (Alfakit), com concentrações que variaram de 0,3125 a 10 mg.L⁻¹, utilizando-se o programa Microsoft Excel for Windows versão 2010.

Os teores de nitrogênio-nitrito (N-NO₂⁻) das amostras foram calculados por meio de curva construída, a partir de solução padrão de nitrito (Alfakit), com concentrações que variaram de 0,0156 a 0,5 mg.L⁻¹.

3.4 Determinação de nitrogênio amoniacal

A concentração de amônia foi determinada como nitrogênio amoniacal pela metodologia volumétrica 4500-D com destilação preliminar como descrita no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999). Primeiramente, 500 mL da amostra foram tamponados em pH 9,5 com 25 mL de tampão de borato. Em seguida, a amostra foi destilada e o nitrogênio amoniacal foi coletado em 50 mL de uma solução absorvente de ácido bórico. Esse destilado é titulado com o uso de um indicador colorido

As análises de nitrogênio amoniacal foram realizadas no laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília.

3.5 Determinação de surfactantes aniônicos

A determinação de surfactantes foi realizada por metodologia adaptada do Standard Methods 21^a ed. 3500 B, 3-58 (2005), através da utilização de Kit adquirido do fabricante Alfakit (Santa Catarina, Brasil), e os surfactantes aniônicos (ou detergentes) foram determinados como compostos que reagem com o azul de metileno em condições especificadas (MBAS – Metilene Blue Active Substances) e, sendo suas concentrações relativas ao sulfonato de alquil benzeno de cadeia linear (LAS), que é utilizado como padrão na análise, efetuando-se a leitura em espectrofotômetro (CELM®, modelo E-225-D) em comprimento de onda (λ) igual a 650 nm. Os resultados dos teores de surfactantes das amostras foram expressos como MBAS (mg.L^{-1}), e calculados por meio de curva construída a partir de solução padrão de LAS (Alfakit), com concentrações que variaram de 0,3125 a 5 mg.L^{-1} , utilizando-se o programa Microsoft Excel for Windows versão 2010.

3.6 Determinação de fosfato

A determinação de Fosfato dissolvido foi realizada pelo método Azul de molibdênio, através da utilização de kit adquirido do fabricante Alfakit (Santa Catarina, Brasil). As determinações foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante, efetuando-se a leitura em espectrofotômetro (CELM®, modelo E-225-D) em comprimento de onda (λ) igual a 650 nm. Os resultados dos teores de fosfato das amostras foram calculados por meio de curva construída a partir de solução padrão de Fosfato (Alfakit), com concentrações que variaram de 0,3125 a 10 mg.L⁻¹, utilizando-se o programa Microsoft Excel for Windows versão 2010.

3.7 Determinação de *Escherichia coli* e outros coliformes

Para a determinação de *Escherichia coli* e outros coliformes nas amostras, o método adotado foi da técnica da filtração em membranas (modificado de CETESB, 2007 e APHA, 2012).

As amostras coletadas foram homogeneizadas 25 vezes, inclinando-se o frasco de modo a formar um ângulo de aproximadamente 45° entre o braço e o antebraço, e com o auxílio de uma pipeta estéril, foram transferidos 5 mL para um frasco contendo 45 mL de uma solução de diluição (ANEXO A) estéril. A partir da diluição anterior, transferiu-se 1 mL para um novo frasco contendo 99 mL de solução de diluição estéril, obtendo-se então a diluição final de 1000 vezes a partir da amostra inicial.

Em seguida, transferiram-se 10 mL para um novo frasco contendo 90 mL de solução de diluição estéril, sendo que este último volume servirá apenas como meio de suporte para a transferência das possíveis bactérias existentes na amostra, possibilitando que se distribuam uniformemente na superfície da membrana ao ser efetuada a filtração.

Após todo o procedimento de diluição, o volume total do último frasco foi filtrado através de uma membrana estéril quadriculada com porosidade de 0,45

µm, sendo as mesmas dispostas, com o auxílio de uma pinça estéril, em placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Biochrome Coliformes (Biolog), obedecendo aos cuidados de assepsia e, a cada filtração, o porta-filtro foi lavado com água de diluição estéril. O meio de cultura utilizado no ensaio, trata-se de um meio cromogênico que permite uma rápida identificação e enumeração simultânea de *E. coli* e outros coliformes, onde a diferenciação é realizada a partir da coloração das colônias (Manafi, 1996; APHA, 2012).

Após as filtrações, as placas contendo o meio de cultura e a membrana foram colocadas em posição invertida em bandejas e incubadas a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$, durante 22-24 horas (Figura 5). Após o tempo de incubação, efetuou-se a contagem das colônias típicas de coliformes totais e *Escherichia coli*.

Os resultados foram expressos como Unidade Formadoras de Colônias (UFC)/100mL, de acordo com a equação (1):

$$\text{UFC}/100\text{mL} = \frac{\text{NTC} \times \text{DE}}{\text{VFA}} \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

UFC: unidade formadora de colônia;

NTC: número total de colônias;

DE: diluição empregada;

VFA: volume filtrado da amostra (mL).

Sendo que a diluição empregada foi igual a 1000 vezes e o volume filtrado foi igual a 10 mL.

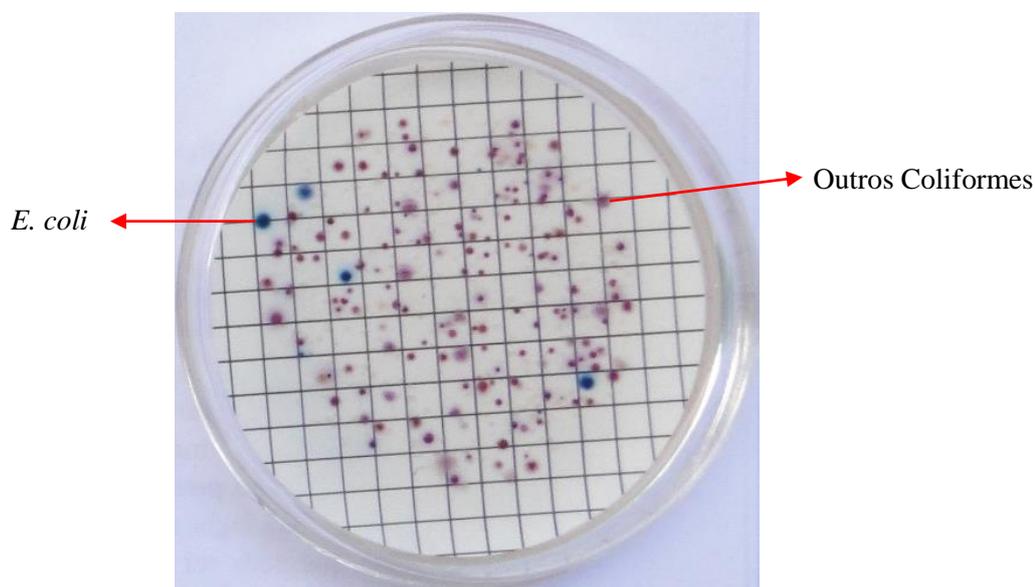


Figura 5 - Placa de Petri contendo o meio de cultura Ágar Biochrome Coliformes, destacando colônias de *E. coli* e os outros coliformes

3.8 Ensaio de toxicidade

Com o objetivo de verificar os níveis de toxicidade das águas dos canais de Santos, foram realizados ensaios de toxicidade para avaliação de efeitos agudos e crônicos. Os ensaios de toxicidade foram realizados no laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília, o qual possui acreditação pelo INMETRO na norma ISO/IEC 17025 para o ensaio de avaliação de efeito crônico com *Lytechinus variegatus* (Embríolarval).

Os exemplares de ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Figura 6), empregados nos ensaios para avaliação de efeito agudo e crônico foram coletados por meio de mergulho livre na Ilha das Palmas, localizada no município do Guarujá, SP.

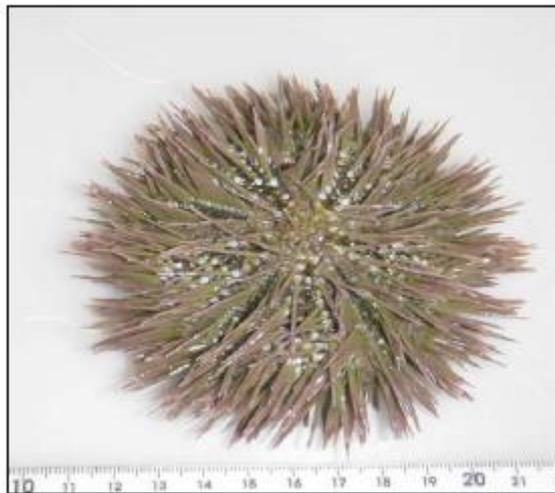


Figura 6 - *Lytechinus variegatus* (Echinodermata, Echinoidea)

Fonte: Cortez (2011)

3.8.1 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo

No ensaio de toxicidade aguda, defini-se como avaliação de efeitos severos e rápidos ao qual o organismo fica exposto a substâncias químicas a um curto período de tempo. Esses critérios de avaliação normalmente em função da mortalidade e da imobilidade do organismo-teste (ARAGÃO & ARAÚJO, 2006; MAGALHÃES & FILHO, 2008).

As avaliações de efeito agudo são importantes para evidenciar os efeitos letais em curtos intervalos de tempo. Fornecendo dados fundamentais para o desenvolvimento e adoção de critérios para melhoria da qualidade ambiental (FONSECA. 1991).

Após analisar a toxicidade de efeito agudo, é possível empregar diferentes métodos estatístico para calcular concentração mediana causador de efeito adverso em 50% dos organismo exposto durante o período de ensaio, os valores de toxicidade aguda podem ser expressos em CE50 (concentração mediana efetiva que causa imobilidade em 50% dos organismos expostos) ou CL50 (concentração mediana letal a 50 % dos organismos expostos).

Este método de ensaio seguiu o protocolo da USEPA (1991), desenvolvido para avaliação da toxicidade aguda e crônica em efluentes e corpos receptores marinhos e estuarinos em diferentes organismos representantes destes ecossistemas. No presente estudo este método foi adaptado para a espécie de ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.

O método consiste na exposição de espermatozóides de ouriço-do-mar por um período de 1 hora, a diferentes concentrações de uma substância química e/ou amostras ambientais. Após este período, a solução contendo óvulos é adicionada aos frascos-teste. Vinte minutos após a adição dos óvulos. o ensaio é encerrado com a adição de 0,5 mL de formol tamponado com bórax em todas as réplicas.

A técnica de indução de liberação dos gametas utilizada neste ensaio seguiu o método descrito na norma técnica ABNT/NBR 15350 (2006) No entanto, neste método é importante estabelecer uma proporção espermatozóide/óvulo que propicie uma taxa adequada de fertilização (70 % - 90 %) no controle do ensaio.

Para isso, após a liberação dos gametas, foram seguidos os procedimentos descritos no protocolo USEPA (1991). No caso dos espermatozóides, o volume liberado por 3 (três) machos foi acondicionado em um béquer seco envolto com gelo: a partir deste volume foram preparadas diferentes soluções (1:50. 1:100. 1:200 e 1:400) diluídas em água do mar

filtrada em membrana de 0.45 μ de modo a se obter uma concentração de 5×10^7 espermatozoides/mL, ideal para realização do ensaio, USEPA (1991). O preparo das soluções seguiu as etapas descritas abaixo:

a) 400 μ L de espermatozoides foram diluídos em 20 mL de água do mar filtrada no frasco A. Posteriormente a solução foi levemente agitada para eliminação de grumos:

b) 10 mL da solução do frasco A foram misturadas com 10 mL de água do mar filtrada no frasco B. A solução foi levemente agitada para eliminação de grumos:

c) 10 mL da solução do frasco B foram misturadas com 10 mL de água do mar filtrada no frasco C. A solução foi levemente agitada para eliminação de grumos:

d) 10 mL da solução do frasco C foram misturadas com 10 mL de água do mar filtrada no frasco D. A solução foi levemente agitada para eliminação de grumos.

Após o preparo das diferentes soluções preparou-se uma solução de espermatozoides mortos para contagem em câmara de Neubauer. Para tal, preparou-se uma solução na proporção de 1:2000 seguindo as etapas descritas abaixo:

a) 10 mL de solução de ácido acético a 10% preparada em água do mar foram adicionados no frasco C e agitados para proporcionar uma boa mistura:

b) 1 mL da solução de espermatozoides mortos do frasco C foi misturado com 4 mL de água do mar filtrada no frasco E.

c) a solução do frasco E após homogeneização, foi colocada nos dois lados da câmara de Neubauer. Após 15 minutos, tempo para que os espermatozoides mortos se depositassem nos campos da câmara, realizou-se a contagem.

d) com o uso de um microscópio óptico foram contados os espermatozoides nos 400 quadrados dos dois campos da câmara. Após a contagem foi estabelecida a média de espermatozoides entre os dois campos:

e) A concentração de espermatozóides no frasco E = 10^4 x média de espermatozóides.

A concentração de espermatozóides em todas as soluções preparadas foi calculada utilizando as seguintes formulações:

1. Concentração do frasco A = 40 x Concentração do frasco E.
2. Concentração no frasco B = 20 x Concentração no frasco E.
3. Concentração no frasco D = 5 x Concentração no frasco E.
4. Concentração original de espermatozóide = 2000 x Concentração do frasco E.

Após o cálculo das concentrações, foi realizada a diluição da solução de espermatozóide com concentração maior que 5×10^7 espermatozóide/mL para a concentração de 5×10^7 espermatozóide/mL utilizando as seguintes fórmulas:

1. Concentração atual/ 5×10^7 = fator de diluição (FD):
2. [(FD) x 10] — 10 = volume (mL) de água do mar filtrada que deve ser adicionada no frasco para atingir a concentração de 5×10^7 espermatozóides/mL.

A solução de óvulos empregada neste ensaio deve ter a concentração de 2000 óvulos/mL. Para isso, os óvulos de 3 (três) fêmeas foram acondicionados em diferentes frascos e, após sua decantação, foram lavados por 3 (três) vezes com a água do mar filtrada. Após avaliação da viabilidade dos óvulos (devem ser redondos, lisos e de tamanho homogêneo), os mesmos foram filtrados em malha de 350 μ m para um mesmo béquer e avolumado para 200 mL.

Com uso de um bastão de vidro, o volume contido no béquer (solução-estoque) foi homogeneizado. Com o objetivo de facilitar a contagem dos óvulos, uma alíquota de 1 (um) mL foi retirada e transferida para um béquer contendo 9 (nove) mL de água do mar filtrada, constituindo assim uma solução mais diluída de óvulos na proporção de 1:10. Desta solução foi retirada uma

alíquota de 1 mL e transferida para uma câmara de Sedgwick-Rafter e foi realizada a contagem do número de óvulos.

O cálculo da concentração de óvulos na solução estoque foi realizado com o uso da seguinte fórmula: Óvulos/mL = Número de óvulos contados x 10.

Para atingir a concentração de 2000 óvulos/mL na solução estoque, seguiu-se a fórmula descrita abaixo:

1. Do número de óvulos contados subtrai-se 200 para obter o volume (mL) de água do mar filtrada a ser adicionado à solução estoque de óvulos, de forma a obter 2000 óvulos/mL.

No caso de o número de óvulos contados serem menor que 200, deixar a solução sem agitação para que os óvulos decantem. Após este procedimento, retirar parte do sobrenadante e realizar nova contagem para verificar se o número de óvulos está maior que 200.

Após o período de exposição dos espermatozoides, a solução de óvulos foi homogeneizada e uma alíquota de 1 mL foi adicionada em todas as réplicas do ensaio. Em seguida foram aguardados 20 (vinte) minutos a $25 \pm 2^\circ$ C quando o ensaio foi encerrado com a adição de 0,5 mL de formol tamponado com bórax.

Para realização da leitura do ensaio com o auxílio de uma câmara de Sedgwick-Rafter, foram contados os 100 (cem) primeiros ovos. Em uma planilha foram anotados os números de óvulos fertilizados (identificados pela membrana de fecundação) (Figura 7) e de óvulos não fertilizados.

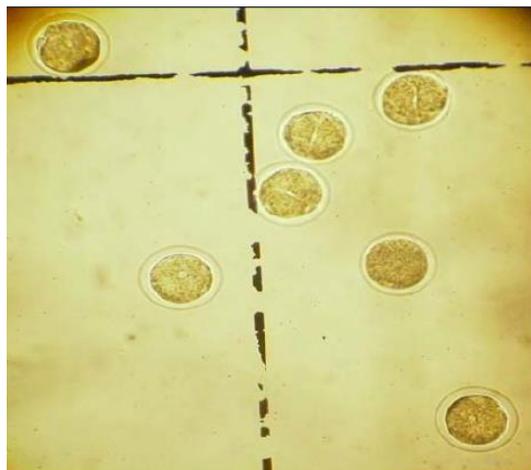


Figura 7 - Ovos de *Lytechinus variegatus*

Fonte: Cortez (2011)

3.8.2 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico

Os testes consistiram na exposição de ovos recém fertilizados de ouriço-do-mar a diferentes amostras dos canais a serem testadas e/ou amostras ambientais durante o período de desenvolvimento embrionarval, ou seja, de 24h a 28h para *Lytechinus variegatus* (ABNT, 2012). As larvas foram divididas em 2 grupos conforme seu aspecto morfológico, para que se possa identificar larvas normais e anormais. A leitura do ensaio foi realizada através de contagem dos 100 primeiros organismos conforme o estágio de desenvolvimento. As salinidades das amostras foram corrigidas com sal marinho para que os valores estivessem equivalentes aos da água do mar.

No ensaio de toxicidade crônico, pode-se verificar os efeitos da exposição do organismo em substâncias químicas que ocorrem durante uma parte significativa (mais de uma fase) do ciclo de vida, avaliando os efeitos subletais de agentes tóxicos no seu desenvolvimento, comportamento e reprodução, os estudos para avaliação de efeito crônico normalmente e empregado nas fases mais sensíveis do ciclo de vida dos organismos-teste, ou seja, nas fases embrionária e larval (ADAMS & ROWLAND, 2002).

Nos ensaios de toxicidade crônica, os resultados podem ser utilizados para verificar (CENO) a maior concentração que não causa efeito ao organismo-teste e também para verificar o (CEO) menor concentração que

causa efeito estatisticamente significativo aos organismos-teste. Estimasse um valor pontual de toxicidade para determinar a concentração do agente tóxico que causa uma determinada porcentagem de redução no desenvolvimento dos organismos exposto (CI - concentração de inibição) (ABNT, 2012).

Através de uma injeção de KCl (cloreto de Potássio) 0,5 mol (Figura 8), foi induzida a liberação dos gametas. Para coleta dos óvulos, identificados por sua coloração amarelo-alaranjados, as fêmeas foram apoiadas com a superfície aboral voltada para baixo em um recipiente menor que o seu diâmetro, com água de diluição à temperatura do ensaio (Figura 9).



Figura 8 - Aplicação de injeção de solução KCl 0,5M

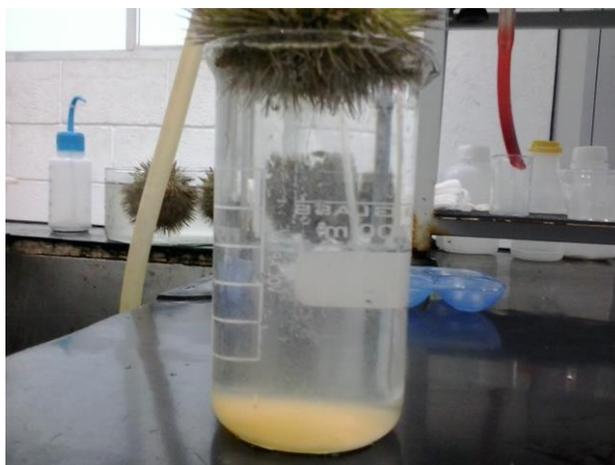


Figura 9 - Fêmeas de *Lytechinus variegatus* liberando os óvulos

Com a utilização de uma pipeta Pasteur de ponta fina, foi retirada uma sub-amostra de óvulos de cada fêmea (3 fêmeas utilizadas em cada ensaio) para verificar a viabilidade dos mesmos.

Para utilização nos ensaios, os óvulos devem ser redondos, lisos e de tamanho homogêneo. Sendo assim, após a sedimentação dos óvulos nos três recipientes. Foi descartado o sobrenadante e as soluções filtradas em malha de 350 μm para um mesmo béquer com o objetivo de reter espinhos e fezes que podem ser liberados juntamente com os gametas. Após este procedimento foi acrescentada à solução de óvulos, água de diluição elevando o volume para 600 mL.

Os espermatozóides, identificados pela sua cor branca, foram coletados com auxílio de uma pipeta de ponta fina diretamente dos gonopóros (Figura 10) e acondicionados em um béquer seco envolto com gelo (Figura 11), sem que os espermatozóides entrassem em contato com água de diluição até o início dos experimentos.



Figura 10 - Coleta de espermatozóide de *Lytechinus variegatus*

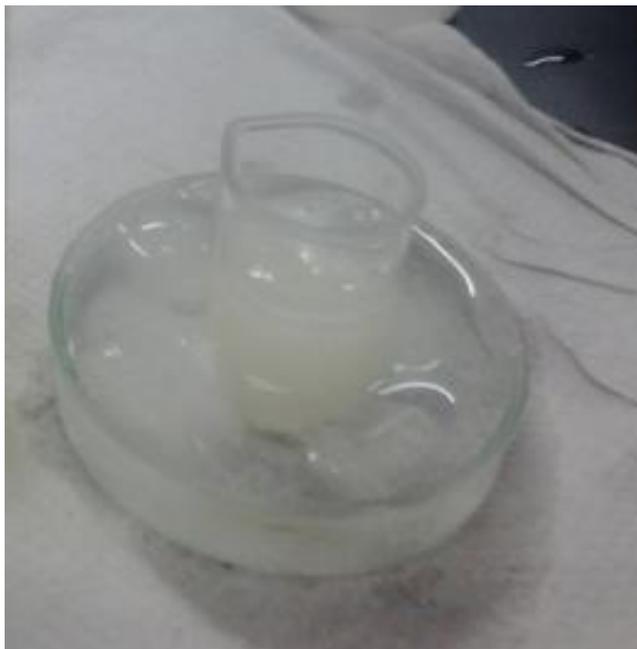


Figura 11 - Espermatozoides de *Lytechinus variegatus* acondicionados em um béquer envolto com gelo

No momento da fecundação foi preparada uma solução na proporção de 0,5 mL de espermatozoide para 25 mL de água do mar. Esta solução foi misturada de modo a proporcionar a dissolução de possíveis grumos. Em seguida foi acrescentado 1 mL a 2 mL da solução de esperma ao recipiente contendo os óvulos e aguardado 10 minutos com leve agitação.

Após este período, três sub-amostras de 10 μ L da solução foram colocadas na câmara de Sedgwick-Rafter para contagem e cálculo da porcentagem de fecundação (mínimo de 80% de óvulos fecundados para utilização no ensaio). O procedimento de contagem dos ovos nas três sub-amostras possibilitou a obtenção da média do número de ovos e o cálculo do volume da solução a ser adicionado nas concentrações-teste contendo 300 ovos. Vale ressaltar que o volume adicionado nos recipientes-teste não ultrapassou 1% do volume da solução teste, critério a ser respeitado.

As amostras de água dos canais foram salinizadas com a utilização do sal Pro Coral Red Sea[®] de maneira a atender a faixa exigida (30 a 37 UPS) NBR 15350/2012.

Posteriormente os embriões foram colocados em todas as réplicas (4) das sete amostras coletadas. Após o período de exposição (24 a 28 horas) em

câmara de germinação e fotoperíodo com temperatura entre $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, foi retirada uma alíquota do controle para verificar se pelo menos 80% das larvas atingiram o estágio de *pluteus* (critério de aceitabilidade do ensaio). Sendo assim, o ensaio foi encerrado adicionando em todas as réplicas 0.5 mL de formol tamponado com bórax.

A leitura do ensaio foi realizada em câmara de Sedgwick-Rafter e o estágio de desenvolvimento (Figura 12), bem como a ocorrência de anomalias nos 100 primeiros organismos de cada réplica foram tabulados.

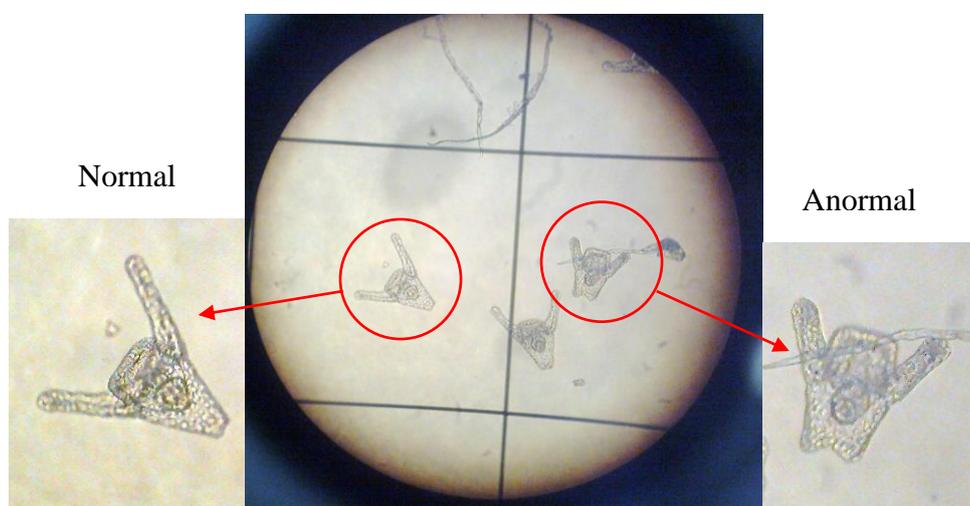


Figura 12 - Desenvolvimento embriolarval de *Lytechinus variegatus* (10X e 40X)

3.9 Análise estatística

Os resultados dos ensaios de toxicidade foram expressos como média \pm desvio padrão (dp). As diferenças estatísticas entre os grupos experimentais com relação ao controle foram detectadas com o uso do teste “t” de Student com bioequivalência ($R=0,91$) ($p<0,05$). As análises estatísticas dos ensaios de toxicidade foram realizadas com o uso do software Toxstat 3.5.

Os resultados das análises físico-químicas foram expressos como média \pm desvio (dp) padrão para cada canal analisado ($n=3$). As diferenças estatísticas quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP) foram detectadas com o uso do teste análise de

variância (ANOVA) com teste posteriori de Tukey: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. As análises estatísticas das análises químicas foram realizadas com o uso do software GraphPad Prism® for Windows versão 5.03.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

4.1.1 Resultados das análises físico-químicas.

Os resultados das análises químicas e físico-químicas foram enquadrados considerando os limites estabelecidos para água doce e salobra de acordo com a resolução CONAMA 357/05, em função da variação encontrada no parâmetro salinidade nas amostragens realizadas.

Os resultados das análises físico-químicas das amostras dos canais estão apresentados na tabela 3 para período de alta pluviosidade e na tabela 4 para período de baixa pluviosidade, onde os valores destacados estão em desacordo com os limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05.

Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas no período de alta pluviosidade.

| Parâmetro | Canal 01 | Canal 02 | Canal 03 | Canal 04 | Canal 05 | Canal 06 | Canal 07 | Referência Conama |
|----------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--|
| Temperatura (°C) | 25,00 | 25,50 | 25,50 | 26,00 | 26,00 | 26,50 | 25,50 | - |
| Salinidade (‰) * | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,33±0,60 | 0,00±0,00 | 0,00±0,60 | 1,00±0,00 | Água doce ≤ 0,5 Água salobra 0,5 a 30 |
| pH * | 7,57±0,03 | 7,32±0,02 | 7,22±0,03 | 7,37±0,01 | 7,31±0,02 | 7,57±0,03 | 7,72±0,06 | 6,00 a 9,00 D 6,50 a 8,50 S |
| OD (mg/L) * | 8,20±0,20 | 6,37±0,15 | 7,27±0,64 | 6,80±0,61 | 8,77±0,90 | 9,77±0,25 | 9,17±0,35 | ≥ 5,00 D ≥ 4,00 S |
| Cor (mg Pt/L) * | 60,00±0,00 | 40,00±0,00 | 20,00±0,00 | 30,00±0,00 | 20,00±0,00 | 20,00±0,00 | 20,00±0,00 | ≤ 75 |
| Turbidez (NTU) * | 339,00±12,50 | 217,00±7,80 | 168,30±2,90 | 159,30±1,20 | 131,07±0,60 | 139,70±1,20 | 148,30±1,20 | ≤ 100 |
| Condutividade (µs/cm) * | 14,84±1,20 | 21,93±0,30 | 15,79±0,30 | 37,70±2,70 | 45,77±2,80 | 66,17±3,30 | 191,50±1,90 | ≤ 100** |

* Valores expressos como média ± desvio-padrão (n=3)

** Cetesb, 2013

Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas no período de baixa pluviosidade.

| Parâmetro | Canal 01 | Canal 02 | Canal 03 | Canal 04 | Canal 05 | Canal 06 | Canal 07 | Referência Conama |
|---------------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------------------|
| Temperatura (°C) | 23,00 | 24,00 | 24,00 | 23,00 | 24,00 | 24,00 | 23,00 | - |
| Salinidade (‰) * | 1,00±0,00 | 2,00±0,00 | 2,00±0,00 | 3,30±0,60 | 1,60±0,60 | 3,30±0,60 | 18,30±0,60 | 0,5 a 30 |
| pH * | 7,58±0,03 | 7,56±0,02 | 7,51±0,03 | 7,46±0,01 | 7,37±0,02 | 7,68±0,03 | 7,66±0,06 | 6,50 a 8,50 |
| OD (mg/L)* | 7,73±0,28 | 4,83±0,58 | 5,00±0,45 | 7,60±0,65 | 1,93±0,55 | 6,73±0,40 | 7,97±0,25 | ≥ 4,00 |
| Cor (mg Pt/L)* | 80,00±0,00 | 60,00±0,00 | 80,00±0,00 | 80,00±0,00 | 80,00±0,00 | 80,00±0,00 | 40,00±0,00 | Virtualmente ausente |
| Turbidez (NTU)* | 378,60±16,00 | 317,00±7,80 | 368,30±2,80 | 466,60±15,10 | 447,00±22,70 | 449,60±23,40 | 156,00±4,60 | Virtualmente ausente |
| Condutividade (µs/cm)* | 277,30±9,60 | 384,00±9,50 | 455,00±25,30 | 537,70±28,10 | 586,70±4,70 | 554,70±29,90 | 220,13±1,80 | ≤ 100** |

* Valores expressos como média ± desvio-padrão (n=3)

** Cetesb, 2013

A água contém, geralmente, diversos componentes, os quais provêm do próprio ambiente natural ou foram introduzidos a partir de atividades humanas e para caracterizar a água, são determinados diversos parâmetros, os quais representam as suas características físicas, químicas e biológicas. Esses parâmetros são indicadores da qualidade da água e constituem impurezas quando alcançam valores superiores aos estabelecidos para determinado uso.

Um modo de definir critérios ou condições a serem atendidos pelos corpos d'água, é estabelecer uma classificação para as águas em função dos seus usos. A legislação vigente sobre corpos d'água define para cada uma os usos a que se destina, os requisitos a serem observados e a classificação. Os corpos de água afluentes das praias de Santos avaliados pela CETESB (2011) são enquadrados, segundo o Decreto Estadual nº 10755/77, na Classe 2.

Como indicadores de qualidade das águas dos canais de drenagem de Santos foram considerados os seguintes parâmetros físico-químicos: temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD), cor, turbidez, condutividade, surfactantes aniônicos, nitrogênios (amônia, nitrato e nitrito) e fosfato.

Os resultados obtidos para as variáveis de temperatura, salinidade, medidas de pH, oxigênio dissolvido (OD), apresentaram valores enquadrados dentro dos limites da Resolução CONAMA 357/2005 em ambos os períodos (alta e baixa pluviosidade) .

No período de alta pluviosidade as análises de cor, apresentaram valores inferiores aos estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/2005, no entanto para período de baixa pluviosidade apenas o canal 02 e o canal 07 apresentaram valores abaixo dos limites estabelecidos na mesma resolução.

Todos os valores encontrados para turbidez no período de alta e baixa pluviosidade apresentaram valores superiores aos estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/2005. A turbidez de uma amostra de água pode ser definida como o grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la, devido à presença de sólidos em suspensão, tais como partículas inorgânicas (areia, silte, argila) e de detritos orgânicos, algas e bactérias, plâncton em geral, etc. Processos como a erosão das margens dos rios em

estações chuvosas, assim como a descarga de diversos efluentes industriais e esgotos sanitários podem promover elevações na turbidez das águas. A alta turbidez promove redução na fotossíntese de vegetação enraizada submersa, assim como de algas, e esse desenvolvimento reduzido pode, por sua vez, suprimir a produtividade de peixes. Logo, elevados valores de turbidez podem influenciar nas comunidades biológicas aquáticas. Valores elevados de turbidez em águas também podem afetar adversamente o uso recreacional das águas (CETESB, 2008).

No período de baixa pluviosidade, os valores de condutividade das amostras de todos os canais (exceto canal 07) foram superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ o que, de acordo com a CETESB (2013), seria um indicativo de ambientes impactados. Para o período de alta pluviosidade, apenas o canal 07 apresentou valor acima de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

4.1.2 Resultados das análises de surfactantes.

A figura 13 apresenta os resultados obtidos nas análises de surfactantes nos períodos de alta e baixa pluviosidade (AP e BP).

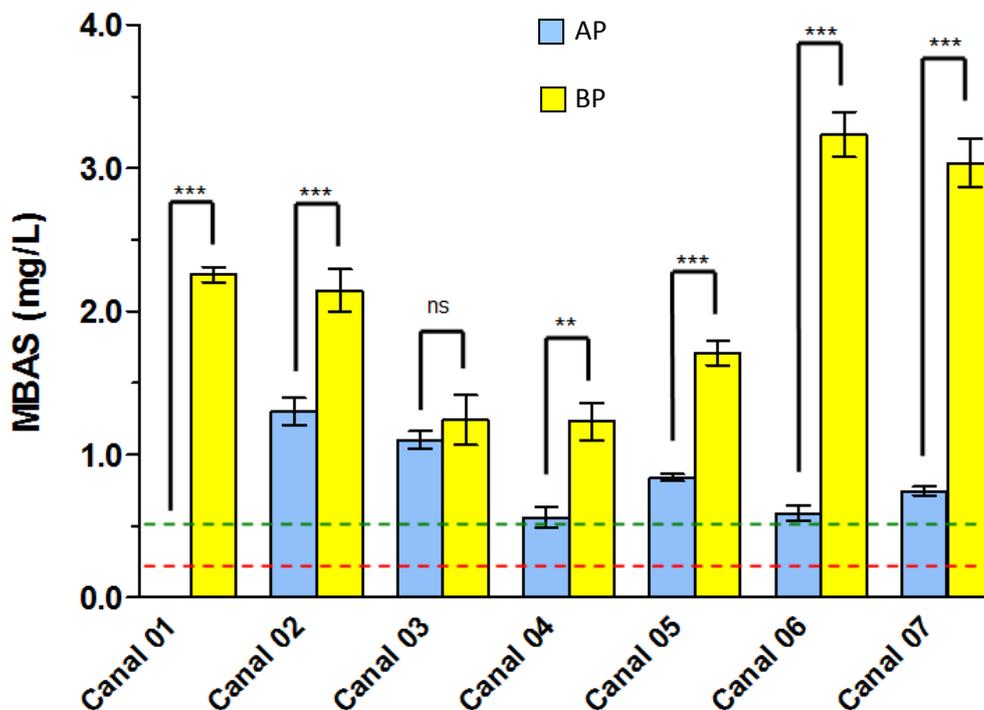


Figura 13 – Resultados das análises de Surfactantes aniônicos (expressos como MBAS).

Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado ($n=3$). ANOVA com teste posteriori de Tukey: ** $p<0.01$; *** $p<0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP); ns= não significativo. As linhas tracejadas significam os valores máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada verde para águas doces de classe 2 e linha tracejada vermelho para águas salobras de classe 2.

Os resultados obtidos a partir das análises de surfactantes aniônicos apresentaram variação estatisticamente significativa entre os períodos de baixa e alta pluviosidade (AP vs. BP). Com exceção do canal 01 (valor abaixo do limite de quantificação da metodologia), todos os outros canais apresentaram resultados que superaram os valores máximos admissíveis pela Resolução CONAMA 357/2005. Os canais 01, 06 e 07 apresentaram maiores diferenças de concentração entre os períodos de alta e baixa pluviosidade.

De acordo com a CETESB (2013), os esgotos sanitários possuem de 3 a 6 mg/L de surfactantes, portanto estes compostos podem ser um indicativo de poluição por esgotos domésticos. As concentrações mais elevadas de surfactantes foram encontradas nos canais 06 e 07 com valores de 3,23 mg/L e 3,03 mg/L, respectivamente. Vale ressaltar que os surfactantes formam um grupo de produtos químicos com alta relevância ambiental, devido a combinação de suas propriedades inerentes e o seu grande volume de produção.

Dentre os principais problemas ambientais causados pelo uso indiscriminado dos surfactantes, podemos citar: a formação de espumas, que causam poluição visual e inibem processos de depuração dos corpos receptores e nas ETEs, além de concentrarem e disseminarem impurezas, bactérias e vírus; a diminuição das trocas gasosas entre a atmosfera e a superfície da água pela formação de uma película isolante na superfície da água, o aumento do conteúdo de fosfatos no meio aquático, pela utilização de polifosfatos em combinação com os surfactantes, favorecendo a eutrofização; e finalmente a elevada toxicidade a organismos aquáticos presentes nos corpos hídricos receptores. Estudos têm demonstrado que a presença de surfactantes pode causar distúrbios ecológicos, afetando organismos aquáticos, inclusive peixes (ROMANELLI, 2004).

Devido a sua natureza química anfifílica, os surfactantes podem interagir com os principais componentes da membrana celular, como as proteínas e os lipídeos, e deste modo desestruturando os sistemas de membranas e enfraquecendo as estruturas de proteção dos organismos. Outros mecanismos de ação tóxica dos surfactantes em sistemas biológicos incluem: alterações na fosforilação oxidativa e alterações estruturais em mitocôndrias; alterações na permeabilidade da membrana ao íon potássio e inibição da síntese de DNA, ambos descritos em estudos com leveduras (ROMANELLI, 2004).

Os surfactantes são tipicamente lançados no ambiente através de sistemas de tratamento ou diretamente, em situações na qual não há sistemas de tratamento disponíveis (BERNA *et al.*, 2007). Considerando que os detergentes ou surfactantes são compostos que podem ocorrer em grandes

quantidades no esgoto (FIELD *et al.*, 1995; MARCOMINI *et al.*, 1987), os resultados obtidos no presente estudo evidenciam uma contaminação por esgoto domiciliar nos canais de drenagem urbana estudados, podendo causar sérios distúrbios ecológicos, afetando organismos aquáticos.

4.1.3 Resultados das análises de Nitrogênio Amoniacal.

A figura 14 apresenta os resultados obtidos nas análises de Nitrogênio Amoniacal nos períodos de alta e de baixa pluviosidade (AP vs. BP).

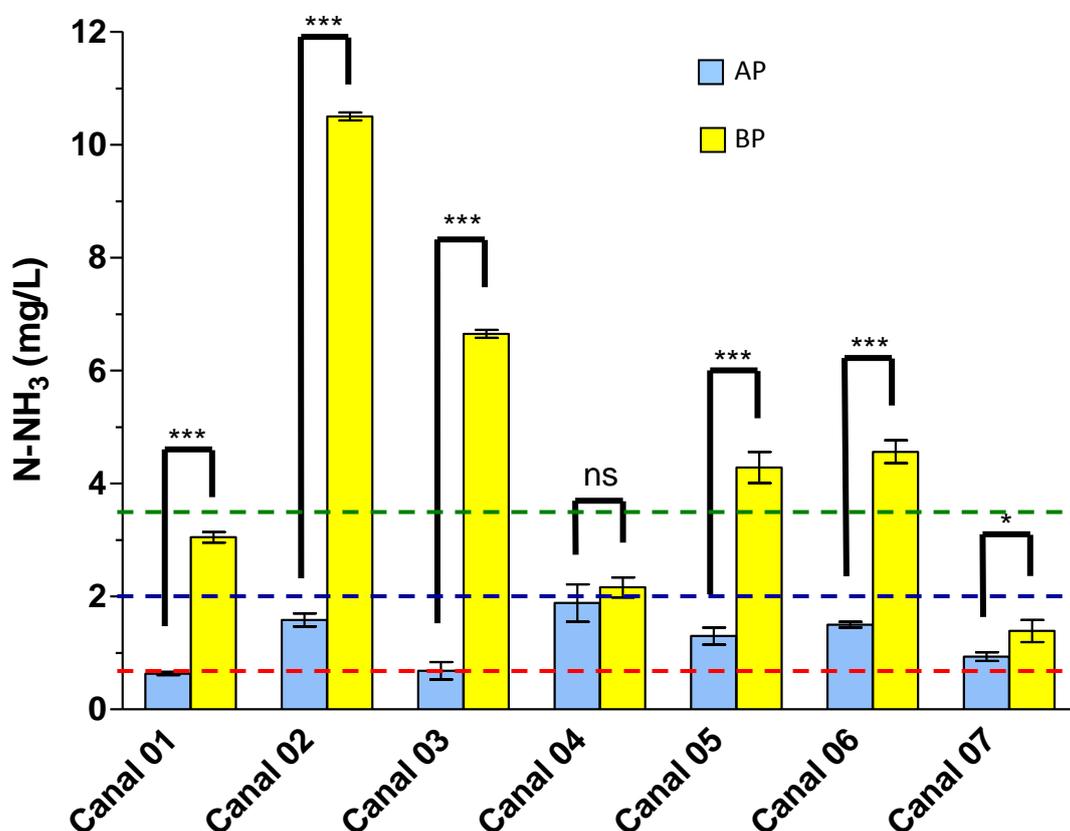


Figura 14 – Resultados das análises de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). Os valores expressos representam a média ± desvio padrão para cada canal analisado (n=3). ANOVA com teste posteriori de Tukey: * p<0.05; *** p<0.001, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP); ns= não significativo. As linhas tracejadas significam os valores máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada verde para

pH \leq 7,5 e linha tracejada azul para $7,5 >$ pH \leq 8,0, ambos para águas doces de classe 2 e linha tracejada vermelho para águas salobras de classe 2.

Os resultados de Nitrogênio Amoniacal total para o período de alta pluviosidade ficaram abaixo do limite de 2,0 mg/L, valor de referência adotado para os canais 01-06 (águas doces). Já as amostras de água do canal 07 deste mesmo período (AP) apresentaram valores acima de 0,7 mg/L, limite estabelecido pela Resolução CONAMA 357/2005 para águas salobras. Os resultados das análises das amostras em período de baixa pluviosidade encontravam-se acima dos limites aceitáveis pela mesma resolução (considerando a classificação das águas e o pH das amostras).

Os canais 02 e 03 foram os que apresentaram maior diferença significativa entre os períodos de alta e baixa pluviosidade enquanto o canal 04 não apresentou diferença significativa entre os períodos.

As fontes de nitrogênio nas águas são diversas. Os esgotos sanitários representam uma das fontes mais importantes, lançando nas águas o nitrogênio sob a forma de nitrogênio orgânico devido à presença de proteínas e, também sob a forma de nitrogênio amoniacal, pela hidrólise da uréia na água. Pela legislação federal em vigor, o nitrogênio amoniacal é considerado padrão de emissão de esgotos. A amônia é um agente tóxico bastante restritivo à vida de organismos aquáticos como os peixes, sendo que muitas espécies não suportam concentrações acima de 5 mg/L. A amônia também promove um consumo de oxigênio dissolvido das águas naturais ao ser oxidada biologicamente. Por estes motivos, a concentração de nitrogênio amoniacal é normalmente utilizado na constituição de índices de qualidade das águas (CETESB, 2008).

No estudo realizado por Braga (2000), foi relatado como possíveis fontes da amônia encontrada no interior dos canais de Santos, a decomposição de matéria orgânica, provenientes da introdução clandestina de esgoto. A concentração detectada no canal 02 em BP (10,5 mg/L) foi a maior dentre todos os canais estudados. Este fato poderia estar relacionado a uma maior ocorrência de ligações clandestinas devido a esta região ser uma das mais antigas da cidade.

4.1.4 Resultados das análises de Nitrito.

A figura 15 apresenta os resultados obtidos nas análises de Nitrito nos períodos de AP e BP.

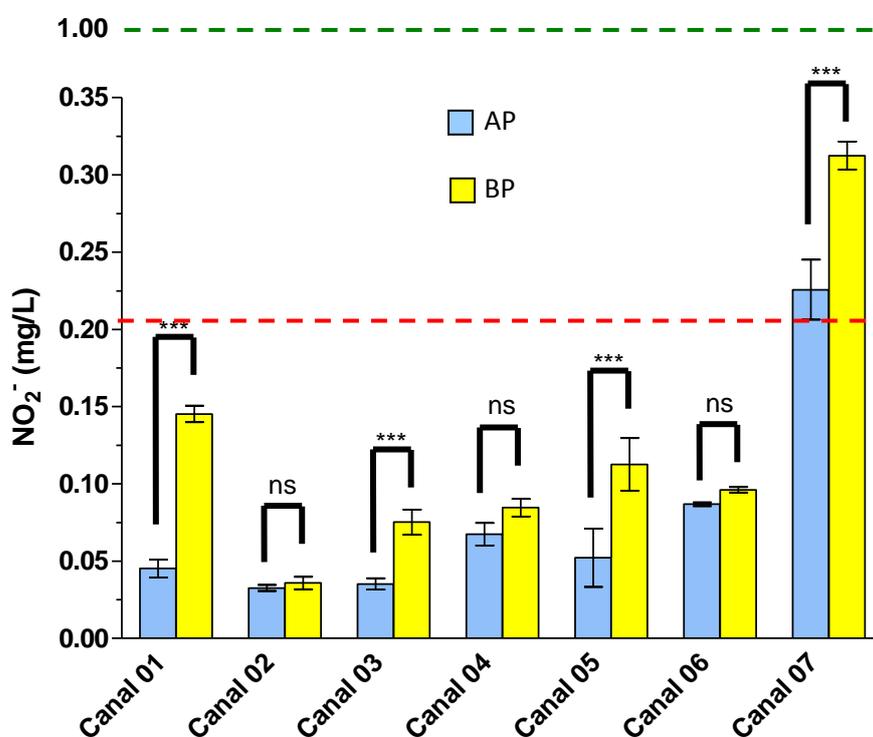


Figura 15 – Resultados das análises de nitrogênio-nitrito ($N-NO_2^-$). Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado ($n=3$). ANOVA com teste posteriori de Tukey: *** $p < 0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP); ns= não significativo. As linhas tracejadas significam os valores máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada verde para águas doces de classe 2 e linha tracejada vermelho para águas salobras de classe 2.

A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece valor máximo de nitrito de 1,0 mg/L para água doce e de 0,2 mg/L para água salobra. Os resultados dos canais ficaram dentro destes limites, com exceção do canal 07 que ficou acima nos dois períodos (AP e BP).

4.1.5 Resultados das análises de Nitrato.

A figura 16 apresenta os resultados obtidos nas análises de Nitrato nos períodos de AP e BP.

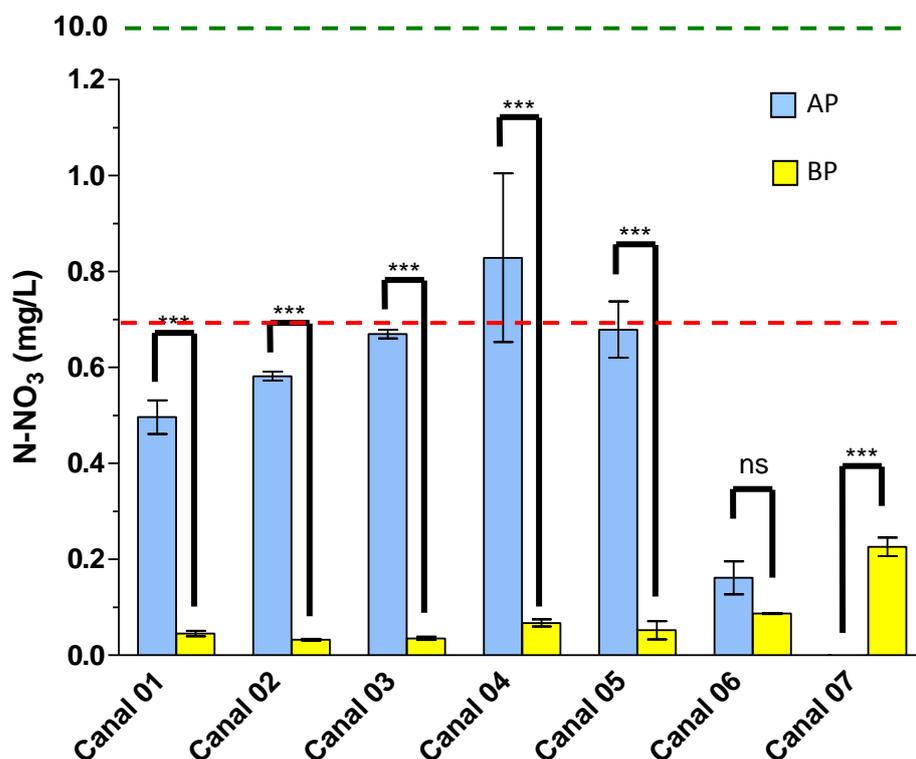


Figura 16 – Resultados das análises de nitrogênio-nitrato (N-NO_3^-). Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado ($n=3$). ANOVA com teste posteriori de Tukey: *** $p < 0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP); ns= não significativo. As linhas tracejadas significam os valores

máximos estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada verde para águas doces de classe 2 e linha tracejada vermelho para águas salobras de classe 2.

A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece valor máximo de nitrato de 10,0 mg/L para água doce e de 0,7 mg/L para água salobra. Os resultados das análises ficaram dentro destes limites, com exceção o canal 04 que ficou acima (0,83 mg/L) no período de AP.

Os resultados de nitrato apresentaram maiores concentrações no período de alta pluviosidade em relação ao período de baixa pluviosidade. Estes resultados podem estar possivelmente associados com uma maior taxa oxidação do nitrito, uma vez que as concentrações de oxigênio dissolvido na água foram maiores nesse período, o que pode estar relacionado ao maior aporte de águas pluviais nos canais provenientes das chuvas torrenciais características do período coletado. Vale ressaltar que a molécula nitrogênio-nitrato, é a principal forma de nitrogênio configurado encontrado nas águas. Além disso, é a fase oxidada no ciclo do nitrogênio e é geralmente encontrada em concentrações maiores nos estágios finais da oxidação biológica. (PIVELI & KATO, 2005)

No canal 07 não foram detectadas concentrações de nitrato no período de AP, o que pode estar relacionado com a mistura da água do mar adentrando pelo canal, devido à ausência da comporta de separação, que pode ocasionar maior diluição.

4.1.6 Resultados das análises de Fosfato.

A figura 17 apresenta os resultados obtidos nas análises de Fosfato nos períodos de AP e BP.

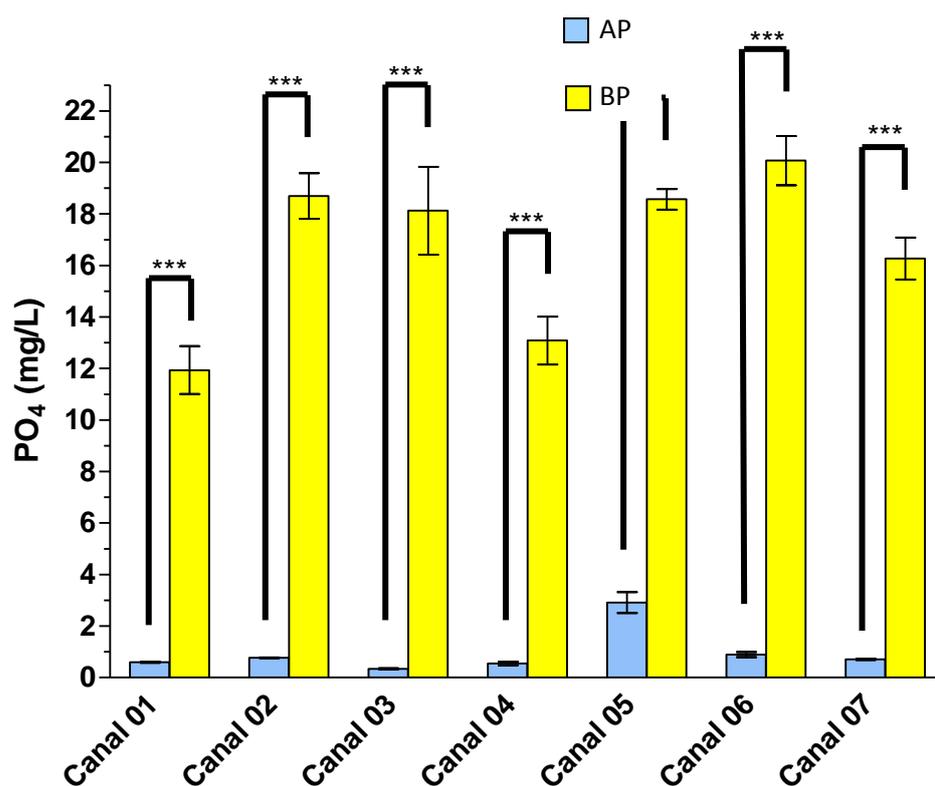


Figura 17 – Resultados das análises de Fosfato. Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado (n=3). ANOVA com teste posteriori de Tukey: ***

$p < 0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP); ns= não significativo.

As análises de fosfatos no período de BP apresentaram valores significativamente acima dos encontrados no período de AP, sendo que o canal 06 apresentou maior concentração (20,07 mg/L). Comportamentos semelhantes puderam ser observados para os resultados das análises de surfactantes (figura 13), pois esses compostos muitas vezes contêm em sua formulação o fosfato, que é um poluente em potencial. A presença de fosfatos no meio marinho é natural, mas recebe um grande incremento devido à existência de detergentes de uso doméstico.

Os resultados das análises no período de BP demonstraram que, quanto maiores são os valores de fosfato, menores são os valores de oxigênio dissolvido (tabela 4). Essa relação pode ser explicada devido ao fato de que altas concentrações de fosfatos, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato, podem promover processo de eutrofização, conseqüentemente diminuindo o teor de oxigênio dissolvido na água.

4.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.2.1 Resultados das análises de *E. coli*.

A figura 18 apresenta os resultados obtidos nas análises de *E. coli* nos períodos de AP e BP.

■ AP

■ BP

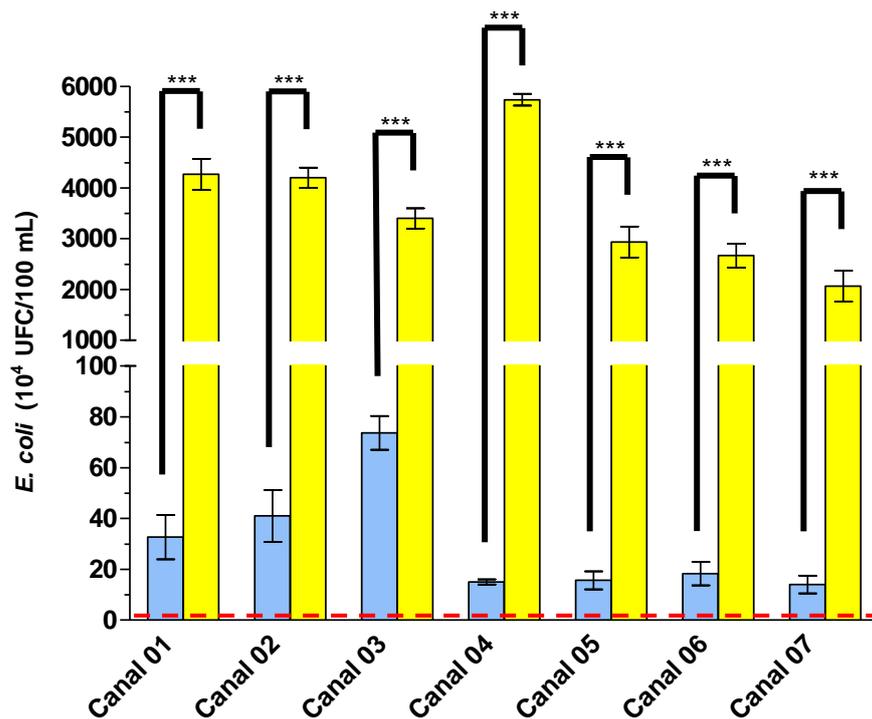


Figura 18 – Resultados das análises de *Escherichia coli*. Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado ($n=3$). ANOVA com teste posteriori de Tukey: *** $p < 0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP). A linha tracejada significa o valor máximo estabelecido pela resolução CONAMA 274/00 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada vermelha referência de $0,2 \times 10^4$ UFC/100mL.

As amostras coletadas nos dois períodos (AP e BP) apresentaram valores de *E. coli* acima do limite de 2000 UFC/mL, sendo estas águas consideradas impróprias para o exercício da recreação de contato primário de acordo com limites estabelecidos pela resolução CONAMA 274/2000. A *Escherichia coli*, bactéria pertencente ao grupo dos coliformes, é abundante em fezes humanas e de animais, tendo somente sido encontrada em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente. Os resultados obtidos no período de BP, apresentaram diferenças estatisticamente significativas, com valores mais elevados em relação ao

período de AP, o que pode estar relacionado com a falta de chuva e consequente menor diluição do possível despejo do esgoto clandestino nos canais. O canal 04 apresentou o maior número de colônias (5733×10^4 UFC/100 mL) para o período de BP.

4.2.2 Resultados das análises de Coliformes Totais.

A figura 19 apresenta os resultados obtidos nas análises de Coliformes Totais nos períodos de AP e BP.

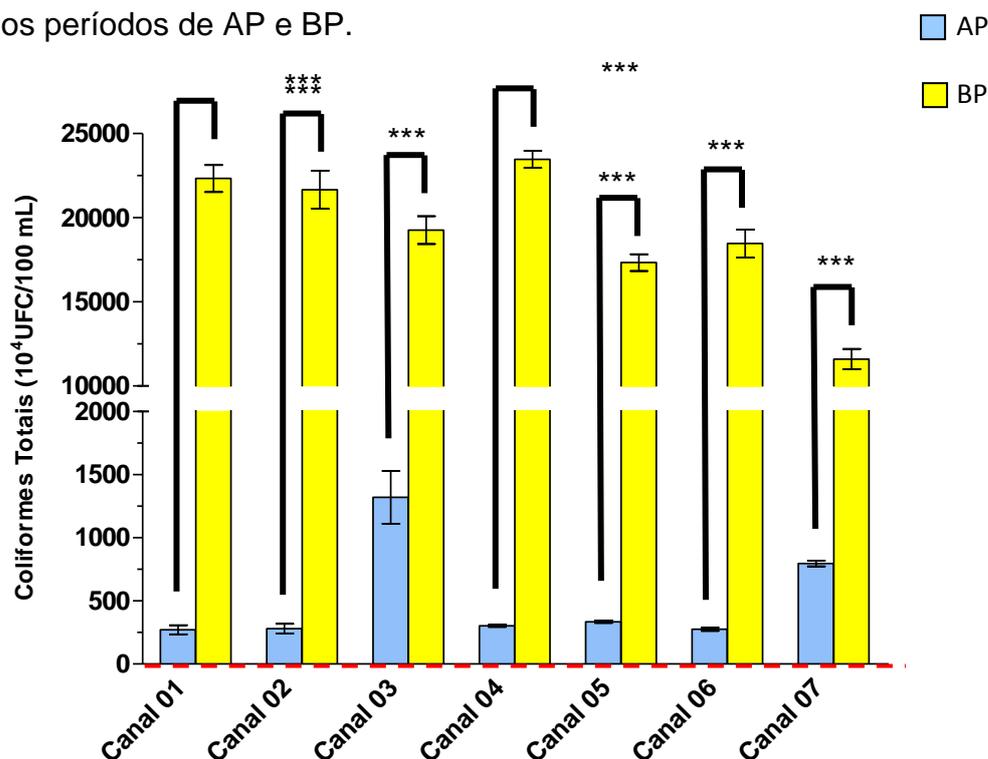


Figura 19 – Resultados das análises de coliformes totais. Os valores expressos representam a média \pm desvio padrão para cada canal analisado ($n=3$). ANOVA com teste posteriori de Tukey: *** $p<0.001$, quando comparados os canais em períodos de alta e baixa pluviosidade (AP versus BP). A linha tracejada significa o valor máximo estabelecido pela resolução CONAMA 274/00 para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento, sendo a linha tracejada vermelha referência de $0,25 \times 10^4$ UFC por 100 mililitros.

De maneira similar aos resultados obtidos para as análises de *E. coli*, os resultados das análises de coliformes totais apresentaram diferença

estatisticamente significativa para todas as amostras dos canais no período de AP e BP.

Os dados obtidos nas duas campanhas possuem uma relação com os dados do monitoramento da balneabilidade realizado nas praias de Santos semanalmente pela CETESB (2013), uma vez que na mesma semana após as amostragens do presente estudo, foi observado um comprometimento da qualidade sanitária das praias.

O canal 03 foi o que apresentou maior valor para o período de AP, este fato pode estar relacionado com a localização do canal 03. Este bairro, Gonzaga, é um dos mais movimentados e freqüentados de Santos com muitos bares e hotéis, além disso é o bairro mais procurado pelos turistas principalmente no verão (período de AP) onde a população flutuante aumenta significativamente.

Os resultados de coliformes observados no período de AP, corroboram com os dados pretéritos do monitoramento anual realizado pela CETESB, os quais apresentaram valores acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA 274/00 CETESB (2012).

A partir dos resultados obtidos para as análises microbiológicas (coliformes totais e *E. coli*), pode-se observar a presença de contaminação de origem fecal, podendo representar um sério problema de saúde pública mediante contato direto com estas águas, com a abertura do sistema de comportas.

4.3 RESULTADOS DOS ENSAIOS DE TOXICIDADE

4.3.1 Resultados dos ensaios de toxicidade aguda

A figura 20 apresenta os resultados obtidos nos ensaios para avaliação de efeito agudo (taxa de fertilização dos óvulos de *Lytechinus variegatus*) nos períodos de AP e BP.

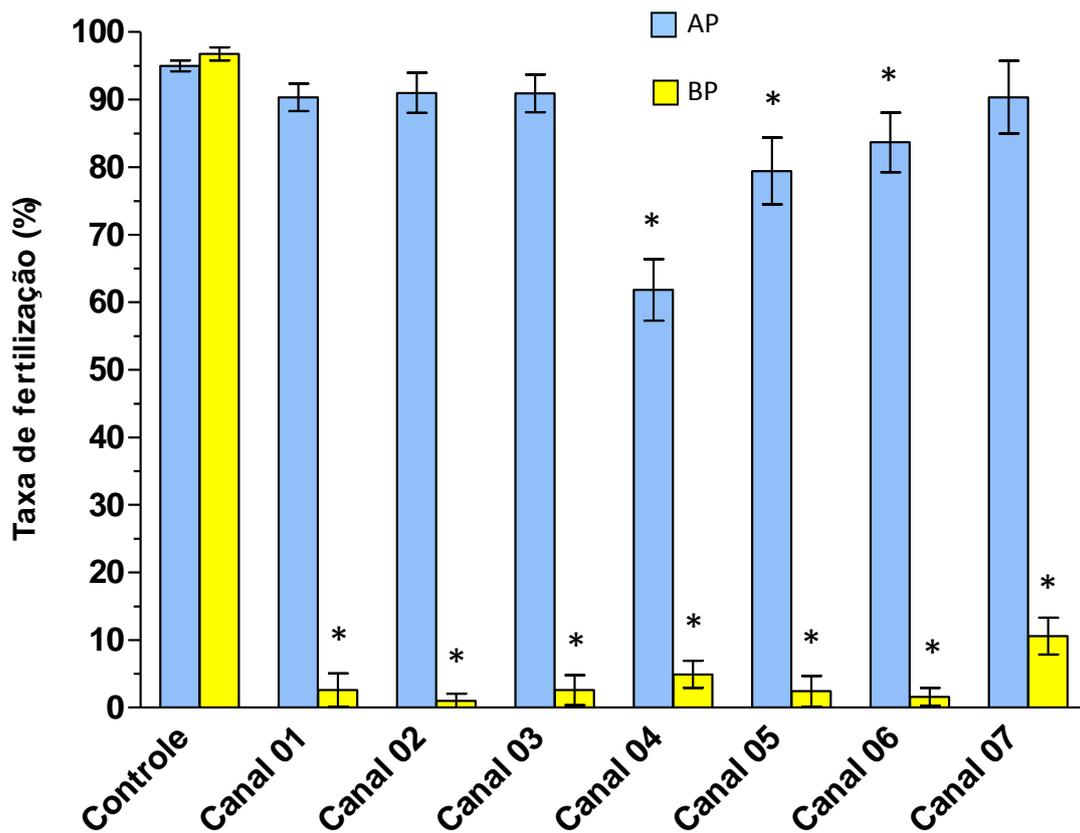


Figura 20 – Valores médios da toxicidade aguda das amostras dos canais no na taxa de fertilização dos óvulos de *L. variegatus*.

* - Diferença significativa em relação ao controle de água.

A presença de múltiplos compostos tóxicos numa mistura pode modificar seletivamente a composição da comunidade biológica a qual está sendo exposta a estas substâncias, sendo que as espécies diferem na sua tolerância pela mesma substância tóxica, mas em um determinado nível, a maioria das substâncias tóxicas destrói qualquer forma de vida. A poluição de águas superficiais raramente advém da ação de um único composto químico em uma única espécie. Os organismos aquáticos são normalmente expostos simultaneamente a numerosas substâncias, que podem interagir de forma antagônica, sinérgica e aditiva. Deste modo, a execução de ensaios de toxicidade em organismos-testes, através de ensaios padronizados, possibilita o estudo do efeito das interações entre diferentes compostos de uma amostra, os quais não são medidos em análises químicas ambientais rotineiras (ROMANELLI, 2004).

Os organismos-teste empregados para a avaliação da toxicidade aquática no presente estudo foi o *Lytechinus variegatus* (ouriço-do-mar), organismo-teste para ambiente marinho, selecionado considerando o corpo receptor para estas águas.

Nos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo das amostras, os canais 04, 05 e 06 para períodos de AP e, todos os canais para o período de BP apresentaram diferença estatística significativa com relação ao controle, sendo então caracterizados como tóxico para organismos de ambiente aquático.

A ocorrência da toxicidade já é motivo de preocupação e, corroborando com a hipótese de que os canais apresentam contaminação por esgoto, ao menos sazonalmente, as águas dos canais são fontes potenciais de poluição das praias (AMBROZEVICIUS & ABESSA, 2008).

De maneira geral o período de AP apresentou menor toxicidade aguda quando relacionado ao período de BP. Estes resultados podem estar relacionados a uma possível diluição das águas dos canais, uma vez que choveu 34,4 mm no dia anterior a coleta para o período AP. Estudos indicam que a toxicidade aguda é mais provável em períodos de pouca chuva, sugerindo a ocorrência da concentração de contaminantes no canal, e que a diluição em episódios de AP pode ser suficiente para minimizar os efeitos agudos dos possíveis contaminantes (AMBROZEVICIUS, 2010).

4.3.2 Resultados dos ensaios de toxicidade crônica

A figura 21 apresenta os resultados obtidos nos ensaios para avaliação de efeito crônico (inibição do desenvolvimento embriolarval de *Lytechinus variegatus*) nos períodos de AP e BP.

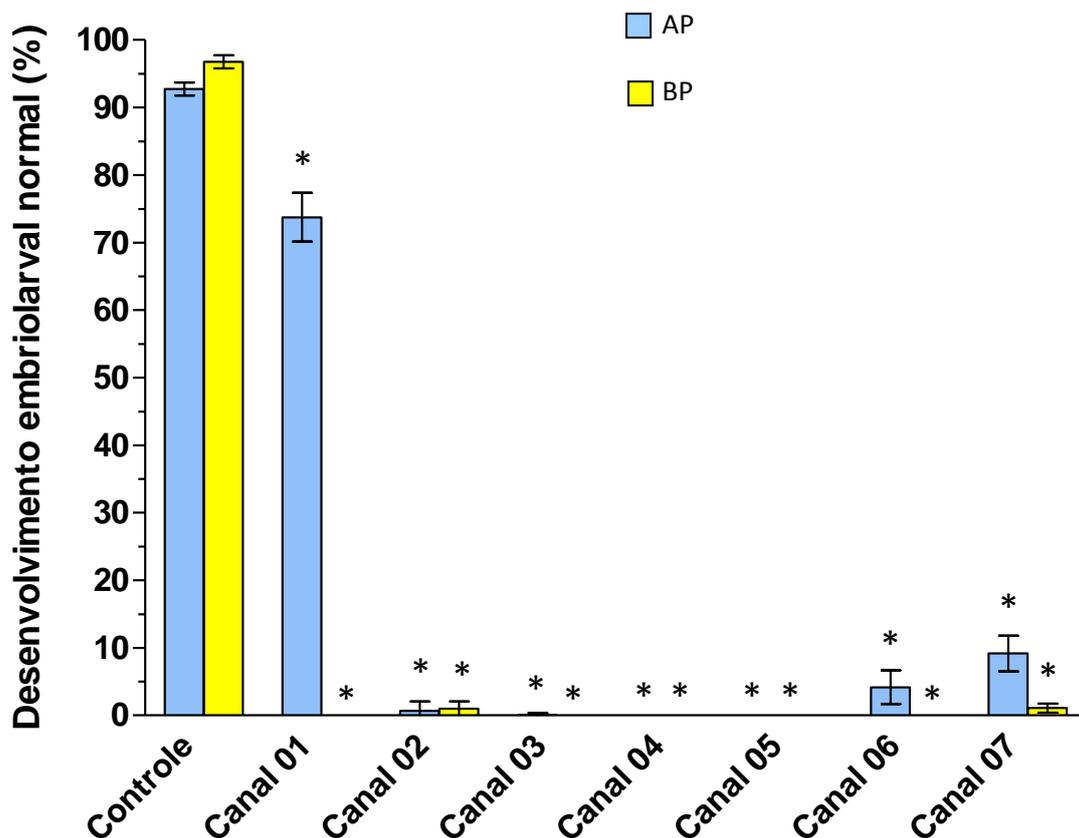


Figura 21 – Valores médio de Toxicidade crônica das amostras dos canais no desenvolvimento embriolarval de *L. variegatus*.

* - Diferença significativa em relação ao controle de água.

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica demonstraram efeitos significativos ($p \leq 0,05$) em todos os pontos amostrados, sendo caracterizados como tóxicos. Segundo Ambrozevicius (2010) os canais seriam enquadrados, de acordo com os seus usos prioritários, na classe 2 de Águas Doces e também conforme o Decreto Estadual nº10755/77, esta classificação restringe a ocorrência de efeito crônico, entretanto, pode-se afirmar que, de acordo com os resultados ecotoxicológicos do presente estudo, os canais estão em

desacordo com a legislação vigente. Esta situação foi observada em trabalhos pretéritos (AMBROZEVICIUS & ABESSA, 2008).

5. CONCLUSÕES

No presente estudo analisou-se a qualidade das águas dos canais de drenagem urbana de Santos (São Paulo, Brasil), através da análise de parâmetros químicos, físico-químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos, para os 07 canais e, em período de alta e de baixa pluviosidade.

A maioria dos resultados obtidos para as análises de turbidez, surfactantes, amônia, e os ensaios microbiológicos e ecotoxicológicos demonstraram estar em desacordo com os limites preconizados pelas legislações CONAMA vigentes, em ambas as condições de pluviosidade (AP e BP).

No entanto, as análises químicas e microbiológicas das amostras coletadas em período de alta pluviosidade apresentaram resultados inferiores quando relacionados ao período de baixa pluviosidade. Estes resultados podem estar relacionados a uma possível diluição das águas dos canais em períodos de alta pluviosidade, sugerindo uma ocorrência de maior concentração de contaminantes no canal em períodos de baixa pluviosidade, refletindo também nas diferenças observadas para os ensaios de toxicidade aguda nos dois períodos.

Mesmo com o propósito de drenagem superficial mediante a construção dos canais de Santos, os resultados obtidos no presente estudo indicam a presença de ligações de esgoto clandestino aos canais, podendo afetar de forma significativa a qualidade ambiental das praias de Santos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas ações prioritárias devem ser tomadas, tais como trabalhos específicos para identificar e sanar as possíveis ligações clandestinas de esgoto aos canais de drenagem urbana de Santos.

7. REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – **Ecotoxicologia Aquática — Toxicidade crônica de curta duração — Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**. Rio de Janeiro. NBR 15350, 2012.

ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarino de Santos, SP, Brasil**. Tese (Doutorado) - Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ABESSA, D. M. S.; ZARONI, L. P.; SOUSA, E. C. P. M.; GASPARRO, M. R.; PEREIRA, C. D. S.; RACHID, B. R. F.; DEPLEDG, M.; KING, R. S. Physiological and Cellular Responses in Two Populations of the Mussel *Perna perna* Collected at Different Sites from the Coast of São Paulo, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V.48(2). pp. 217-225. 2005.

ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic Toxicology Test Methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. A. Jr.; CAIRNS, J. Jr. **Handbook of Ecotoxicology**. Second Edition. Lewis Publisher. p. 19-43, 2002.

AGUILERA, M. E. M. **Modelo numérico para estudo da dispersão de águas de drenagem urbana na Baía de Santos (SP)**. 2008. 45 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, São Vicente, 2008.

AMBROZEVICIUS, A. P. **Poluição aquática em Santos (SP): uma abordagem interdisciplinar**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência Ambiental) – Universidade de São Paulo., 2010.

AMBROZEVICIUS, A. P. & ABESSA, D. M. S. **Acute toxicity of waters from the urban drainage channels of Santos (São Paulo, Brazil)**. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 2008 3(2): 108-115.

APHA – AWWA – WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20^o st ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 1999.

APHA – AWWA – WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21^o st ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2005.

APHA – AWWA – WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22^o st ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2012.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos aquáticos**. In: ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. (Editores). *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. São Carlos, SP, Rima, p. 117-152, 2006.

BRAGA, E.S.; BONETTI, C.V.D.H.; BURONE, L.; BONETTI-FILHO, J. 2000. **Eutrophication and bacterial pollution caused by industrial and domestic wastes at the Baixada Santista Estuarine System – Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 165-173.

BRASIL. CONAMA, Resolução Federal N.º 357. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasília, Diário Oficial da União, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.**

BRASIL. Censo demográfico 2010. IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Rio de Janeiro. (2010). Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 08 de Jan. de 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MINISTERIO DA EDUCAÇÃO – INSTITUTO DE DEFESA DO CONSUMIDOR. **Consumo sustentável: Manual de Educação**. Brasília: Consumers Internacional/MMA/MEC/IDEC, 2005. 160 p.

CAMARGO, A. F. M.; BINI, L. M.; SCHIAVETTI, A. Avaliação dos impactos provocados pelas descargas de esgotos em alguns corpos d'água do município de Rio Claro. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 395-406, 1995.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **L5.241: coliformes totais determinação pela técnica de membrana filtrante – método de ensaio**. São Paulo, 2007. Disponível em < <http://www.cetesb.sp.gov.br> >. Acesso em 20 de ago. de 2012.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem**. São Paulo, 2007. Disponível em < <http://www.cetesb.sp.gov.br> >. Acesso em 20 de ago. de 2012.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de Qualidade das praias litorâneas do estado de São Paulo**, São Paulo, 2012. Disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/praias/25-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em 22 de jan. de 2013.

CORTEZ, F. S. **Avaliação ecotoxicológica do fármaco Triclosan para invertebrados marinhos**. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2011.

CAVINATTO, V. M. **Saneamento básico: fonte de saúde e bem-estar**. São Paulo: Ed. Moderna, 1992.

DAHI, E. **Water Supply in Developing Countries: Problems and Solutions**. Lyngby: Eds. Technical, University of Denmark, 1992.

DIERSING, N. **"Water Quality: Frequently Asked Questions."** Florida Brooks National Marine Sanctuary, Key West, FL. Disponível em <<http://floridakeys.noaa.gov/scisummaries/wqfaq.pdf>>. Acesso em 15 de Ago. de 2013.

FIELD, J.A.; FIELD, T.M.; POIGER, T.; SIEGRIST, H.; GIGER, W. **Fate of secondary alkane sulfonate surfactants during municipal wastewater treatment.** *Wat. Res.* 1995;29(5):1301-7.

FONSECA, A. L. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustácea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais.** Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. p. 210, 1991.

FREITAS, A.; MUNIZ, C. **Estudo da relação entre índice pluviométrico e abundância da bactéria enterococos nas praias do Município de Santos, SP.** – Univesrsidade Santa Cecilia , Santos, SP, 2012

FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; ALMEIDA, L. M. **Importância da Análise para a Saúde Pública em duas Regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, vol.17, nº 3, p. 651-660, 2001.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Primeiros resultados do censo 2010: População por município. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=354850>>. Acesso em: 01 de nov. 2012.

JOHNSON, D. L. **Meanings of Environmental Terms.** *Environmental Issues*, Vol. 26, 2007.

MAGALHÃES, D. P.; FILHO, A. S. F. **A Ecotoxicologia Como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos.** *Oecol. Bras.* 12 (3): p. 355-381, 2008.

MANAFI, M. **Fluorogenic and chromogenic enzyme substrates in culture media and identification tests.** International Journal of Food and Microbiology, 31: 45-58, 1996.

MANAHAN, S .E. **Química Ambiental.** Ed. Bookman, 9ª edição, 2013

MARCOMINI, A.; CAPRI, S.; GIGER, W. **Determination of linearylbenzenesulphonates, alkylphenol, polyethoxylates and nonylphenol in waste water by high performance liquid chromatography after enrichment on octadecylsilica.** J Chromatogr 1987;403:243-52.

MELO, K. C. **Avaliação e modelagem reológica de fluídos de perfuração base água.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2008.

PARENTE, K. S. **A questão da balneabilidade nas praias: o caso dos municípios de Santos e São Vicente.** Revista Brasileira de Ciências Ambientais, n. 2, 2004.

PEIXOTO FILHO, A. C.; BONDAROVSKY, S. H. **Água, bem econômico e de domínio público.** Revista do Centro de Estudos Judiciários. n. 12, p. 13-16, Set. / dez. 2000.

PIVELI, ROQUE PASSOS. **Qualidade da água e poluição: aspectos físico-químicos / R.P. Piveli, M.T. Kato.** São Paulo: ABES, 2005. p. X - 285

PREFEITURA MUNICIPAL DE SANTOS. Disponível em <http://www.santos.sp.gov.br/defesacivil/control.php> Acesso em: 20 de Fev. 2013

ROMANELLI, M.F. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos Surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixes de elétrons.** Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2004.

ROUQUAYROL, M.Z. E ALMEIDA FILHO, N. Epidemiologia e Saúde. 5. ed. Rio de Janeiro: editora Medsi, 1999. 600 p.

SANTOS CIDADE. Disponível em <<http://www.santoscidade.com.br/historia.php>>. Acesso em 01 de nov. 2012.

SARTOR, S. M.; DEGASPARI, F. A. **A balneabilidade das praias de Santos: discussão dos critérios oficiais de avaliação.** In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27., 3-8 dez. 2000, Porto alegre. Anais... Porto Alegre: ABES, 2000.

SILVA, R. C. S.; ARAUJO, T. M. **Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana (BA).** Revista Ciência & Saúde Coletiva. Rio de Janeiro. v. 8. n. 4. Jan, 2003.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. EPA/600/4-91/003 — **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms.** Cincinnati: U.S. Environmental Protection Agency. p. 579, 1991.

8. ANEXO

ANEXO A - Solução “Água de Diluição” para os ensaios microbiológicos

Fonte: CETESB, 2007

I. Fórmula

Solução-estoque A ----- 1,25mL
 Solução-estoque B ----- 5 mL
 Água destilada ----- 1000mL
 pH final após esterilização: 7,2 ±0,2

II. Preparo

1. Preparar a Solução-estoque A com a seguinte composição:

Dihidrogeno fosfato de potássio (KH_2PO_4).-----34,0 g
 Agua destilada ----- 1000mL

Preparo: Dissolver dihidrogeno fosfato de potássio em 500mL de agua destilada, ajustar o pH para 7,2 ±0,5 com solução de hidróxido de sódio 1N e completar o volume para 1 litro com água destilada. Distribuir volumes adequados à necessidade de uso do laboratório em frascos com tampa de rosca. Esterilizar em autoclave a 121°C, durante 15 minutos. Armazenar em geladeira, durante no máximo 2 meses.

2. Preparar a Solução-estoque B com a seguinte composição:

Cloreto de magnésio hexaidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)----- 81,1g
 Água destilada q.s.p.-----1000mL

Preparo: Dissolver o cloreto de magnésio em 500mL de agua destilada e completar o volume para 1000mL com agua destilada. Distribuir volumes adequados à necessidade do laboratório em frasco com tampa de rosca. Esterilizar em autoclave a 121°C, durante 15 minutos. Armazenar em geladeira, durante no máximo 2 meses.

3. Preparar a solução de trabalho de acordo com a fórmula do item I, distribuir em frascos com os volumes adequados para os procedimentos do ensaio e esterilizar em autoclave a 121°C, durante 15 minutos.