

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

ARMINDO PEREIRA CABRAL FILHO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO ESCOAMENTO SUPERFICIAL (*RUNOFF*)
EM VIAS URBANAS E PORTUÁRIAS DA CIDADE DE SANTOS, SP**

**SANTOS – SP
2017**

ARMINDO PEREIRA CABRAL FILHO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO ESCOAMENTO SUPERFICIAL (*RUNOFF*)
EM VIAS URBANAS E PORTUÁRIAS DA CIDADE DE SANTOS, SP**

Dissertação apresentada à Universidade Santa Cecília como parte dos requisitos para obtenção de título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos, sob orientação do Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira e coorientação do Prof. Dr. Cledson Akio Sakurai.

**SANTOS - SP
2017**

Autorizo a reprodução parcial ou total deste trabalho, por qualquer que seja o processo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos.

628.21 Cabral Filho, Armindo Pereira.
C118a Avaliação ecotoxicológica do escoamento superficial (*runoff*) em vias urbanas e portuárias da cidade de Santos, SP / Armindo Pereira Cabral Filho.
2017.
80p.

Orientador: Camilo Dias Seabra Pereira
Coorientador: Cledson Akio Sakurai

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Santa Cecília,
Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas
Costeiros e Marinhos, Santos, SP, 2017.

1. Drenagem urbana 2. Contaminação 3. Toxicidade. I. Pereira, Camilo Seabra. II. Sakurai, Cledson Akio. III. Avaliação ecotoxicológica de *runoff* em vias urbanas e portuárias da cidade de Santos, SP.

*Dedico este trabalho à memória de minha mãe,
meu Pai, tia Hulda e minha companheira Carla
Medalha.*

A minha irmã Carla, a Ana Clara e a Giulia.

*A Luciana Bretas que com seu amor e
companheirismo trouxe novo sentido para
minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida e pela fé que tem me renovado.

À minha amada mãe, exemplo de luta e dedicação e que sempre me inspirou a encarar os desafios sem medo. Neste momento em que você não se encontra mais aqui, saiba que continuo seguindo em frente espelhado no seu exemplo.

A meu Pai, que partiu tão cedo da minha vida e descansa, espero nos encontrarmos um dia em um lugar bem melhor que este.

A minha querida tia Hulda, minha segunda mãe. Não tenho palavras para descrever o quanto sua participação na minha vida foi importante.

À Carla Medalha, que me inspirou e me incentivou a me enveredar no caminho da ciência. A sua memória está presente também neste trabalho.

À Lú, obrigado pelo companheirismo, amor, carinho e incentivo para alcançar este objetivo. “O amor une perfeitamente todas as coisas” (Colossenses 3:14).

Obrigado ao meu professor e orientador Camilo, pela atenção, paciência e motivação. Sempre demonstrando gentileza, tranquilidade e equilíbrio mesmo nos momentos de aflição. Sou grato pelo aprendizado que tive contigo.

Ao Laboratório de Ecotoxicologia da Unisanta, meu muito obrigado! Obrigado ao Fernando e Fábio, não somente pela contribuição técnica tanto nos ensaios como no texto da dissertação, mas pela confiança em me deixar frequentar o laboratório à noite. Agradeço também aos ex estagiários Mateus, Bia e Larissa e aos atuais Jonas, Heloísa, Renata, Lays, Dani e Júlia. Em especial ao Jonas que teve participação efetiva nos ensaios e me salvou tantas vezes nas vésperas de feriado.

À Andressa Ortega, meus profundos agradecimentos por ter me ajudado quando precisei e principalmente por ter me ensinado a fazer os ensaios com *Daphnia*. Sem este começo não haveria fim, portanto muito obrigado mesmo!

Obrigado ao prof. Aldo e prof. Augusto pela sempre habitual disponibilidade e interesse em ajudar e também pelos conhecimentos transmitidos nas disciplinas que fiz com vocês.

Ao professor Ronaldo Torres, pessoa ímpar. Sempre disposto e disponível para ajudar e ensinar. Sem contar sua imensurável contribuição na avaliação química das amostras.

Ao Professor Akio pela coorientação, apoio e incentivo.

À Professora Luciana Guimarães, obrigado pela oportunidade do estágio de docência onde também pude aprender um pouco sobre toxicologia.

A Sandra e Imaculada, pela sempre cordial atenção e disponibilidade.

A UNIFESP, pela bolsa de incentivo a qualificação. E aos amigos e diretores Profa Sylvia, Prof. Odair e Emerson pela compreensão e apoio durante todo esse processo.

A turma da magia!!!! Pedrão, Fátima, Carlota e João.

Aos colegas de mestrado da Unifesp, Érika e Marcelo pelo apoio e incentivo mútuo.

Aos colegas do mestrado que cederam suas neonatas para que eu pudesse realizar meus ensaios.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho, minha gratidão de coração.

RESUMO

O estudo do escoamento superficial urbano é um assunto de preocupação e cuja quantidade de estudos vem aumentando em todo mundo devido às variadas fontes e tipos de contaminantes existentes já encontrados em algumas pesquisas. De acordo com Lee et al. (2004), a existência de períodos de estiagem ou períodos úmidos podem contribuir de forma significativa na presença de poluentes nas águas de escoamento superficial. Neste estudo foi avaliada a toxicidade de amostras de escoamento superficial (*Runoff*) coletadas em vias urbanas na cidade de Santos/SP. Levou-se em consideração a sazonalidade entre os períodos seco e úmido. Foram escolhidos dois pontos distintos para coleta, sendo um deles localizado em zona portuária e o outro em zona residencial. As quatro coletas realizadas aconteceram no início e final das estações seca e úmida. Na análise dos dados de ecotoxicidade encontrados levou-se em consideração a pluviometria incidente nos pontos de coleta, devido à sazonalidade entre as estações seca e úmida, período de estiagem antecedente as chuvas e veículos nas vias. Foram realizados ensaios de toxicidade agudo e crônico com *Daphnia similis* e ensaios crônicos de curta duração com *Echinometra lucunter* (ouriço-do-mar). Os resultados mostraram que o longo período de estiagem que antecedeu a coleta no início do período seco exerceu influência na toxicidade do escoamento superficial, pois todas as amostras coletadas apresentaram toxicidade. As amostras coletadas na zona portuária apresentaram-se mais tóxicas que na zona residencial. Observou-se também contaminação por metais e amônia, que se relacionaram com a toxicidade.

Palavras chave: Drenagem urbana. Contaminação. Toxicidade.

ABSTRACT

The study of urban surface runoff is a matter of concern and the number of studies of this issue is increasing worldwide due to the varied sources and types of contaminants already found in some researches. According to Lee et al. (2004), the existence of periods of drought or wet periods can contribute significantly to the emission of pollutants in the runoff. In this work the toxicity of surface runoff samples (Runoff) collected on urban roads in the city of Santos / SP was evaluated. The seasonality between dry and wet periods was taken into account. Two distinct points were chosen, one of them being located in the port area and the other in a residential area. Four collections were carried out at the beginning and end of dry and wet rainy seasons. The ecotoxicity data were analyzed taking into account the rainfall incident at the collection points, due to the seasonality between dry and wet seasons, the period of drought precedent the rains and vehicles in the roads. Acute and chronic toxicity tests were performed with *Daphnia similis* and short-term chronic trials with *Echinometra lucunter* (sea urchin). The results showed that the long period of drought that preceded the sample collection at the beginning of the dry period exerted influence on the toxicity of the surface runoff, since all collected samples presented toxicity. The samples collected in the port area were more toxic than in the residential zone. It was also observed contamination by metals and ammonia, which were related to the toxicity.

Keywords: Urban drainage. Contamination. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa da Baía de Santos onde são destacados os 7 canais que terminam na praia, além dos canais do Orquidário (A), da rua Santa Catarina (B), da rua Moura Ribeiro (C), da rua Francisco Manuel (D), da rua Eleanor Roosevelt (E), da rua Alberto de Carvalho (F), da rua Jovino de Melo (G) e da Rua Hugo Maia (H)Pag. 19
- Figura 2.** Mapa com indicação de localização dos pontos de coleta e dos pluviômetros automáticos gerenciados pelo CEMADEN (Centro de Nacional de Monitoramento e Alerta de Desastres Naturais)Pag. 26
- Figura 3.** Foto com exemplar de *Daphnia similis*.....Pag. 28
- Figura 4.** Foto com exemplar de adulto de ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*) utilizado no ensaio crônico de ecotoxicidadePag. 31
- Figura 5.** Estimulação elétrica em ouriços-do-mar para indução de liberação de gametas (A) Coleta de gametas masculinos (B) e femininos (C)Pag. 31
- Figura 6.** Larvas plúteus com desenvolvimento normal (esquerda) e anômalo (direita).Pag. 32
- Figura 7.** Princípio de funcionamento do Espectrômetro de Fluorescência de Raio X.....Pag. 34
- Figura 8.** Ilustração da emissão de raios X fluorescente pelos elétrons excitados das camadas K e L dos átomos (direita)Pag. 34
- Figura 9.** Misturas das amostras com reagentes para teste de ortofosfato e tabela de coresPag. 35
- Figura 10** –Misturas das amostras com reagentes para teste de amônia e tabela de coresPag. 36
- Figura 11** – Misturas das amostras com reagentes para teste de nitrito e tabela de coresPag. 36
- Figura 12** – Tabelas de cores utilizadas nos testes nos testes de ortofosfato, amônia, nitrato e nitritoPag. 37
- Figura 13.** Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com *Daphnia similis* para amostra coletada na zona portuária no início do período seco de chuvasPag. 39

Figura 14. Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona residencial no início do período seco de chuvas	Pag. 40
Figura 15. Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária no final do período seco de chuvas	Pag. 40
Figura 16. Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona residencial no final do período seco de chuvas	Pag. 41
Figura 17. Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária (A) e zona residencial (B) no início do período úmido de chuvas	Pag. 41
Figura 18. Resultado do ensaio de ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária (A) e zona residencial (B) no início do período úmido de chuvas	Pag. 42
Figura 19. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária no início do período seco de chuvas	Pag. 43
Figura 20. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária (A) e zona residencial (B) no fim do período seco de chuvas.....	Pag. 44
Figura 21. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária (A) e zona residencial (B) no início do período úmido de chuvas.....	Pag. 45
Figura 22. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Daphnia similis</i> para amostra coletada na zona portuária (A) e zona residencial (B) no fim do período úmido de chuvas.....	Pag. 46
Figura 23. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona portuária no início do período seco de chuvas	Pag. 47
Figura 24. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona residencial no início do período seco de chuvas	Pag. 47

Figura 25. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona portuária no fim do período seco de chuvas	Pag. 48
Figura 26. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona residencial no fim do período seco de chuvas	Pag. 49
Figura 27. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona portuária no início do período úmido de chuvas	Pag. 49
Figura 28. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona residencial no início do período úmido de chuvas	Pag. 50
Figura 29. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona portuária no fim do período úmido de chuvas	Pag. 51
Figura 30. Resultado do ensaio de ecotoxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i> para amostra coletada na zona residencial no fim do período úmido de chuvas	Pag. 51
Figura 31. Representação do Fator 1 em função das coletas de amostras	Pag. 56
Figura 32. Representação do Fator 2 em função das coletas de amostras	Pag. 57
Figura 33. Representação do Fator 3 em função das coletas de amostras	Pag. 57
Figura 34. Representação gráfica da associação dos fatores com cada um dos locais de coleta	Pag. 58
Figura 35. Associação das variáveis segundo representatividade dos fatores	Pag. 59
Figura 36. Foto de varredora automática.....	Pag. 72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Coordenadas GPS dos pontos de coletaPag. 26
- Tabela 02.** Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade aguda com *D. similis*.....Pag. 29
- Tabela 03.** Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade crônica com *D. similis*.....Pag. 29
- Tabela 04.** Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade crônica de curta duração com *E. lucunter*.....Pag. 29
- Tabela 05.** Resumo dos resultados de ecotoxicidade e dados de pluviometria na data e véspera da coletaPag. 52
- Tabela 06.** Resumo dos resultados de análise química feita com espectrômetro de fluorescência de Raio X e os limites estabelecidos pela Conama 357 para estes elementosPag. 52
- Tabela 07.** Resultados das medições de pH, condutividade, salinidade e testes de amônia, nitrito, nitrato e ortofosfatoPag. 53
- Tabela 08.** Matriz com os dados empregados na Análise de Fatores (AF)Pag. 54
- Tabela 09.** Factor Loadings extraídos para cada um dos 3 fatores principais da análise multifatorial.....Pag. 55
- Tabela 10.** Resultado extraído para cada componente principal (Autovalores) na análise multifatorial.....Pag. 55
- Tabela 11.** *Factor Scores* extraídos para cada um dos locais de coletaPag. 56
- Tabela 12.** Contaminantes encontrados em escoamentos superficiais de superfícies de vias e suas fontes de geraçãoPag. 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância
BMP – Best Management Practices
CAP – Cimento Asfáltico de Petróleo
CEMADEN – Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais
CENO – Concentração de Efeito não Observado
CEO – Concentração de Efeito Observado
CI50 – Concentração Inibitória Média
CL50 – Concentração letal média
CE50 – Concentração efetiva média
CONDEPASA – Conselho de Defesa do Patrimônio Cultural de Santos
COT/TOC – Carbono Orgânico Total
USEPA – United States Environmental Protection Agency
EPC – Estação de Precondicionamento de Santos
FRX – Espectrometria de Fluorescência de Raio X
ISCU – International Council of Scientific Unions
KCl – Cloreto de Potássio
LDM – Limite de Detecção do Método
HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
PCB – Bifenilos Policlorados
pH – Potencial hidrogeniônico
SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
SCOPE – Comitê Científico sobre Problemas Ambientais
SWMM – Standard Methods Wastewater

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Pag. 15
1.1. Histórico do sistema de drenagem de Santos	Pag. 18
1.2. Histórico da ecotoxicologia	Pag. 20
1.3. A importância dos ensaios de toxicidade na avaliação de escoamentos urbanos	Pag. 23
2. OBJETIVOS	Pag. 25
3. MATERIAL E MÉTODOS	Pag. 26
3.1 Coleta.....	Pag. 26
3.2 Ensaios laboratoriais	Pag. 28
3.2.1. Ensaios ecotoxicológicos	Pag. 28
3.2.2. Análises químicas.....	Pag. 33
3.2.3 Medição de pH, salinidade e condutividade.....	Pag. 37
4. RESULTADOS	Pag. 39
4.1 Ensaios de ecotoxicidade aguda com <i>D. similis</i>	Pag. 39
4.2 Ensaios de ecotoxicidade crônica com <i>D. similis</i>	Pag. 42
4.3 Ensaios de ecotoxicidade crônica de curta duração com <i>E. lucunter</i>	Pag. 46
4.4 Concentrações dos elementos químicos encontrados	Pag. 52
4.5 pH, Condutividade, Salinidade e concentrações de formas nitrogenadas e fosfatadas	Pag. 52
4.6 Análise Fatorial dos resultados	Pag. 54
5. DISCUSSÃO	Pag. 60
6. CONCLUSÃO	Pag. 73
REFERÊNCIAS	Pag. 74

1. INTRODUÇÃO

O escoamento superficial de vias urbanas foi considerado como uma das principais fontes de poluição orgânica, de metais pesados e nutrientes (CHEN et al., 2016). O estudo dos contaminantes presentes no escoamento urbano e em específico de vias urbanas tem sido alvo de estudos recentes em todo o mundo. (WU et al., 2014; SARASWAT et al., 2016; XIAO et al., 2016; YANG e TOOR, 2017). Entretanto, a preocupação nestes países, não se limita somente a identificar os contaminantes, mas em tratar o escoamento superficial para atender exigências de autoridades ambientais (GOTVAJN e ZAGORC-KONCAN, 2009; HILLIGES et al., 2013; CEDERKVIST et al., 2017). Os contaminantes no escoamento urbano têm várias características, incluindo ampla distribuição temporal e espacial de fontes de contaminação, aleatoriedade e diversidade de vias de poluição, bem como complicações e variações na composição da poluição (PETRUCCI et al., 2014; CHEN et al., 2016). Como fontes naturais de contaminantes, as águas de chuvas contêm minerais dissolvidos e particulados provenientes de matéria particulada atmosférica e pequenas quantidades de gases dissolvidos provenientes de gases atmosféricos. O escoamento de águas pluviais urbanas, constitui uma das fontes originadas por ações humanas que pode entrar em contato com todos os detritos de uma cidade (WEINER, 2007). No caso do escoamento de vias, combustíveis derramados, metais dissolvidos, restos orgânicos, partículas de pneus e freio, etc.

A drenagem urbana de águas pluviais durante o período seco é um dos principais contribuintes para a poluição de muitos corpos aquáticos receptores (LEE et al., 2004) e o escoamento superficial de rodovias é reconhecido como o mais contaminado dos diferentes tipos de águas pluviais (HALLBERG, 2008). As condições climáticas, como a existência de longos períodos secos ou chuvosos, bem como características do tráfego e atividades adjacentes às vias podem ter grande impacto nas emissões poluentes das descargas de águas pluviais urbanas.

O potencial negativo de impacto de águas de chuva nos ecossistemas aquáticos tem sido demonstrado em diversos estudos com diferentes tipos de métodos biológicos. Há vários fatores que influenciam a quantidade e

biodisponibilidade de contaminantes nas águas de chuva mesmo quando são derivadas de uma área com uso e ocupação bastante homogêneos, como no caso de uma rodovia, onde se pode esperar variação da toxicidade durante os eventos de chuva (WARA E FARM, 2008).

Apesar do risco ambiental dos efluentes urbanos gerados pela drenagem das vias, o foco das atenções em drenagem urbana é destinado à eficiência do escoamento urbano, cuja expansão urbana sem planejamento tem produzido constantes episódios de alagamento. Entretanto, além da eficiência do escoamento urbano, em muitos países do mundo, incluindo alguns estudos no Brasil (PRESTES, 2006; PEREIRA, 2007; MARTINS, 2013;), apresentam preocupação com a qualidade da água que é destinada aos corpos hídricos receptores.

A avaliação da toxicidade das águas de escoamento é essencial para avaliar com acurácia a eficácia das Melhores Práticas de Gerenciamento (*Best Management Practices* - BMP) (KAYHANIAN, 2007). Estas ações podem ser não estruturais, que não necessitam de investimentos para obras, mas envolve ações de cunho social para modificar padrões de comportamento da população, tais como meios legais, sanções econômicas e programas educacionais. São denominados sistemas de controle na fonte, pois atuam no local ou próximo das fontes de escoamento, estabelecendo critérios de controle do uso e ocupação do solo nessas áreas (PROVINELLI et al., 2009). As medidas não estruturais também são caracterizadas por ações com baixo custo como varrição intensificada em períodos mais críticos.

Os sistemas estruturais, por sua vez, englobam obras de engenharia destinadas à retenção temporária do escoamento, podendo-se promover o tratamento da água. Esses sistemas permitem o controle quali-quantitativo da vazão gerada na bacia, seja pelo armazenamento temporário do volume escoado, seja pela redução da carga poluidora (PROVINELLI et al., 2009).

Um importante ponto da discussão sobre o gerenciamento de águas pluviais é a definição e classificação dos tipos de práticas e estratégias e como usá-las de maneira eficiente. Geralmente, as BMPs são selecionadas a partir de uma característica presuntiva de controle da qualidade da água como por exemplo, remover 80% dos sólidos suspensos totais da água. O projetista geralmente é incumbido de selecionar uma prática que atenda ao padrão regulatório mínimo.

(HUBER et al., 2006)

A experiência norte americana no processo tem sido aplicada através de um programa nacional desenvolvido pela USEPA (*US Environmental Protection Agency*) que obriga a todas as cidades com mais de 100 mil habitantes a estabelecer um programa de boas práticas (*Best Management Practices*). O município deve demonstrar que está avançando e buscar atingir estes objetivos através de um plano. Em caso de descumprimento poderá ser penalizado através de ação judicial movida pela USEPA. Este processo contribui para reduzir a poluição difusa dos rios da vizinhança das cidades (TUCCI, 2005).

Santos é uma cidade costeira do estado de São Paulo pertencente à Região Metropolitana da Baixada Santista que se destaca por possuir o maior porto da América Latina e o polo petroquímico e industrial de Cubatão. Além disso, possui elevado nível de urbanização e intensa atividade turística. Este cenário contribui para uma intensa movimentação nas vias urbanas e pode implicar na introdução de contaminantes constituintes de combustíveis, óleos e graxas, cargas movimentadas, além de inseticidas e outros detritos, que vão se depositando sobre a pista de rolamento das vias. Este acúmulo de substâncias pode permanecer sobre a pista da via até que sejam carregados pelas águas de chuva e conduzidos pelo sistema de drenagem pluvial urbano.

O volume drenado durante episódios de chuva é direcionado à estação de condicionamento e pré-tratamento de esgoto da SABESP; que conta apenas com um processo de gradeamento e cloração prévios ao descarte no centro na baía de Santos, uma região de pouca profundidade (10 m) e baixo hidrodinamismo, favorecendo a concentração de poluentes.

Nesse contexto, nosso estudo parte da hipótese que os efluentes líquidos gerados pela drenagem urbana contêm contaminantes orgânicos e inorgânicos em concentrações capazes de gerar toxicidade a organismos aquáticos.

A fim de verificar essa hipótese, o estudo avaliará a toxicidade e contaminação das águas de escoamento pluvial em vias pertencentes à zona portuária e à zona residencial, levando em consideração a sazonalidade de chuvas, a influência da primeira descarga de chuva, o tráfego urbano e as cargas transportadas pelas vias do porto de Santos.

1.1. Histórico do sistema de drenagem urbana de Santos

Desde o início da industrialização, nos dois últimos séculos, a produção de bens e consumo em larga escala, sem preocupação com os tipos de resíduos gerados e o descontrole da forma como são lançados no meio ambiente, resultou na disponibilidade de uma diversidade de produtos químicos potencialmente tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente em quantidades indiscriminadas. Os sinais da poluição tornam-se mais evidentes à medida que a população cresce e conseqüentemente muitas doenças de veiculação hídrica começam a surgir causando epidemias com altos índices de mortalidade devido a ausência de saneamento básico (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Assim aconteceu na cidade de Santos, no final do século XIX, quando as condições sanitárias da cidade eram precárias. O lixo era jogado nas ruas e córregos. Com a ausência de sistema de esgotos, a cidade foi assolada por epidemias que começaram a se alastrar pelo interior do estado, colocando em risco a mão de obra de imigrantes utilizada na lavoura do café. O maior porto de exportação do país tornou-se maldito (OLIVEIRA e SANTOS, 2015).

Foi quando o engenheiro Saturnino de Brito foi nomeado, após uma intervenção do estado, para desenvolver um projeto de saneamento básico para Santos que consistia na construção de oito canais para a drenagem das águas pluviais e um sistema independente de esgoto para a cidade (RAMOS, 2004).

O primeiro canal de drenagem foi inaugurado em 1907, mas somente a partir de 1960 a poluição se torna um fato conhecido internacionalmente, em conseqüências dos problemas causados ao próprio homem e ao meio ambiente. Os canais de Santos hoje são considerados símbolos da engenharia sanitária e patrimônio cultural brasileiro. Foram um marco na história da cidade e hoje servem como referência para localização (CARRIÇO, 2015). Os canais de Santos foram tombados em 2006 pelo Conselho de Defesa do Patrimônio Histórico, Arqueológico, Artístico e Turístico do Estado de São Paulo (Condephaat), e em 2007, pelo Conselho de Defesa do Patrimônio Cultural de Santos – CONDEPASA (OLIVEIRA e SANTOS, 2015). Atualmente existem 21 canais responsáveis por drenar toda a área insular do município, sendo que 7 deles desembocam na praia (figura 1).

Em seis destes canais existem comportas retentoras do fluxo, localizadas nas

praias que normalmente permanecem fechadas. A água dos canais é direcionada para a Estação de Pré-Condicionamento de Esgotos – EPC e, posteriormente, lançado ao mar via emissário submarino, juntamente com os efluentes do esgoto doméstico. Na ocasião de chuvas em que o nível de água sobe muito nos canais, as comportas são abertas e as águas pluviais, juntamente com material dissolvido nelas, são liberadas diretamente para o mar (AMBROZEVICIAUS, 2010; RAMOS, 2004).



Figura 1 – Canais de Santos.
Fonte: CLASSE INVERTIDA, 2017.

O emissário submarino, inaugurado em 1978, tem a finalidade de despargir, no mar, o material previamente tratado pela estação de pré tratamento de esgoto. Na EPC, o esgoto passa por dois processos para separação dos sólidos. O primeiro processo para retirar a areia, chamado de desarenação, e o segundo processo, o gradeamento, para retirada dos demais sólidos jogados indevidamente no sistema de esgoto. Este material separado é destinado para aterros sanitários adequados para esta finalidade. Os líquidos resultantes desta primeira fase passam por um

tratamento químico de cloração. Após este tratamento preliminar, o esgoto é direcionado ao emissário através de uma tubulação de 1,75m de diâmetro e lançado a 4 km da praia (MENEZES, 1985).

1.2. Histórico da Ecotoxicologia

Devido a diversos acidentes com produtos químicos com repercussão mundial, o interesse do homem sobre as questões ambientais tem crescido gradativamente a partir das últimas décadas. Seria bom acreditar que os erros cometidos anteriormente durante a revolução industrial global não seriam repetidos. O progresso Techno industrial emerge desigualmente dentro e entre países criando uma ampla oportunidade para a repetição dos erros já cometidos. Problemas ambientais continuam surgindo apesar da crescente preocupação e regulamentações legais devido ao crescimento populacional mundial e a sofisticação dos nossos sistemas Techno econômicos (NEWMAN, 2010).

As fontes de poluição pontuais (efluentes líquidos) e difusas (sedimentos e águas subterrâneas contaminados, águas pluviais) têm contribuído significativamente para as modificações ambientais, reduzindo a diversidade de espécies autóctones e aumentando desordenadamente a densidade de determinadas espécies indesejáveis (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Em meio a este preocupante cenário, surge a ecotoxicologia, termo derivado das palavras ecologia e toxicologia. O termo foi proposto por Thruhaut durante o encontro do comitê do Conselho Internacional das Uniões Científicas (ICSU) em Estocolmo no ano de 1969 (TRUHAUT, 1977). A introdução do novo termo foi resultado de uma crescente preocupação com os efeitos de produtos químicos ambientais em espécies diferentes dos humanos. Identificou-se uma área de estudo preocupada com os efeitos nocivos de químicos (toxicologia) dentro do contexto de ecologia. Até este momento a toxicologia ambiental era focada nos efeitos nocivos em humanos. Já num contexto mais amplo, engloba os efeitos de químicos também nos ecossistemas (WALKER et al., 2012).

Truhaut definiu a ecotoxicologia como o ramo da toxicologia que estuda os efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos constituintes de ecossistemas, animais (incluindo o homem), vegetais e micróbios num contexto

integrado.

A Ecotoxicologia deve envolver tanto a observação como a experimentação. Seus resultados expressam a interação e amplitude entre diversas substâncias presentes em determinado meio. E esta complexidade consequente destas interações entre seus elementos resultam na necessidade da observação em conjunto de aspectos físicos, químicos e biológicos. As análises de toxicidade são ferramentas que, quando usadas juntamente com medidas químicas e ecológicas, permitem a identificação, quantificação e geração de critérios para o controle da descarga de poluentes tóxicos (BAÈZ et al., 2004).

Os testes de ecotoxicidade nos permitem a analisar o efluente ou substância poluente como um todo, considerando os agentes químicos presentes na amostra e suas interações e o grau de potencialidade de danos que poderá causar em um organismo teste.

Testes de toxicidade são ensaios laboratoriais, realizados sob condições experimentais específicas e controladas, utilizados para estimar a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais (águas ou sedimentos). Nesses ensaios, organismos-testes são expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados (COSTA, 2008).

Os organismos testes, tem como princípio proteger o maior número de espécies dentro de um ecossistema, e a sua escolha se faz principalmente pela sensibilidade deste ao poluente em questão e da sua relevância ecológica dentro do ecossistema (BRENTANO, 2015).

Através dos testes de toxicidade, determinam-se o tempo e as concentrações em que o agente químico é potencialmente prejudicial, pois para qualquer produto o contato com a membrana ou sistema biológico pode não produzir um efeito adverso se a concentração do produto for baixa, ou o tempo de contato for insuficiente. Concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados e, portanto, altas concentrações poderão ter efeitos prejudiciais em tempos de exposição extremamente curtos. Mas devemos lembrar que as pequenas concentrações geralmente produzem efeitos crônicos subletais e, até mesmo, letais durante longos períodos de exposição (CESAR et al., 1997).

Um teste de toxicidade aquática é um procedimento no qual as respostas dos organismos aquáticos são usadas para detectar e medir os efeitos de uma ou mais

substâncias, resíduos, ou fatores ambientais, sozinhos ou em combinação, durante um determinado tempo.

De central importância para a toxicologia e a ecotoxicologia é a relação entre a quantidade de química para qual um organismo é exposto e a natureza e grau de consequentes efeitos nocivos. A relação dose resposta proporciona a base para a avaliação de perigos e riscos presentes por presença de químicos no meio ambiente (WALKER et al., 2012).

Com estas respostas, pode-se estimar, através de métodos estatísticos, a concentração dessas substâncias, que certamente poderão causar toxicidade aos organismos representantes dos corpos receptores. Assim, a toxicidade característica inerente de uma substância ou mistura de substâncias químicas se evidencia sobre os organismos vivos e torna-se a única variável a ser controlada (CESAR et al., 1997).

Os ensaios ecotoxicológicos desenvolvidos em laboratórios podem ser realizados para espécies representativas da coluna d'água ou sedimentos.

O princípio básico para todos os testes, embora haja detalhes específicos para cada um, requer condições específicas, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, dureza da água, fotoperíodo, duração do teste, etc. Nesses ensaios, os organismos-teste são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada em soluções contidas nos frascos-teste, por determinado período de tempo. Em todos os ensaios são utilizados controles, nos quais se avalia a viabilidade do lote de organismos expostos. Após o período de teste verifica-se o efeito das amostras em função de parâmetros como mortalidade, crescimento, reprodução, dentre outros. São realizadas análises estatísticas para expressão dos resultados em unidades numéricas (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

O ensaio de toxicidade aguda pode ser definido como aquele que avalia os efeitos, em geral severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos a uma substância poluente composta por agentes químicos, em curto período de tempo, geralmente de um a quatro dias. Devido a rapidez, facilidade de execução e baixo custo, estes ensaios foram os primeiros a serem realizados e constituem a base dos dados ecotoxicológicos (BIRGE et al., 1985).

Estes ensaios são utilizados para simular situações em que os organismos estejam expostos a concentrações de contaminantes que possam causar efeito agudo.

De um modo geral, as concentrações dos poluentes contaminantes lançados no meio aquáticos são diluídas e os organismos ficam expostos a níveis subletais dos poluentes, não ocasionando a morte dos indivíduos, mas causando distúrbios fisiológicos a longo prazo. Para estes casos é utilizado o teste de ecotoxicidade crônica que permite avaliar os efeitos deletérios causados aos organismos expostos.

Ou seja, efeitos resultantes da exposição continuada ou repetida de um organismo a uma substância por todo o tempo de sua vida ou a grande parte dela (SPENCER, 2003).

1.3. A importância dos ensaios de toxicidade na avaliação do escoamento superficial urbano

Segundo o Departamento de Transportes da Califórnia, o escoamento das estradas contribui com até 50% do total de sólidos em suspensão, 16% do total de hidrocarbonetos e 35 a 75% dos insumos totais de poluentes metálicos para as águas receptoras prejudicadas nos corpos hídricos. Em termos de toxicidade e risco para a saúde, os metais pesados, contaminantes orgânicos e microrganismos são frequentemente citados como os contaminantes mais preocupantes no escoamento.

A maior parte dos estudos sobre toxicidade do escoamento superficial são realizados de forma a determinar os elementos químicos contaminantes presentes no escoamento. Segundo Palma et al. (2009) apud Koukal et al. (2004) é crucial estabelecer programas de monitoramento para avaliar a qualidade das águas superficiais e compreender o comportamento e a variação dos poluentes detectados e suas fontes, o que é necessário para a redução do impacto de risco promovido pelas substâncias perigosas e nutrientes no ecossistema aquático. No entanto, a avaliação do grau de contaminação de ambientes aquáticos não pode levar em consideração somente sua caracterização química, mas devem ser complementadas com ensaios biológicos que determinem os potenciais efeitos tóxicos e permita uma avaliação integrada desses efeitos em comunidades aquáticas. Considerando que a avaliação da toxicidade tem a vantagem de fornecer informações sobre a toxicidade da mistura, mas não consegue rastrear as fontes de contaminação (WU et al., 2014).

Kayhanian et al. (2008) afirmam que para se atender as exigências regulatórias de qualidade de água (nos EUA), uma ampla gama de ações construtivas das melhores práticas de gerenciamento (BMPs) estão sendo implementadas para remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos no intuito de proteger as espécies aquáticas nos corpos receptores e que menos atenção é dada para avaliar a toxicidade. Entretanto, o conhecimento da toxicidade do escoamento superficial é essencial para avaliar a efetividade das BMPs com acuracidade.

A variabilidade de agentes contaminantes e diferentes condições envolvidas na composição química e conseqüentemente na toxicidade do escoamento, torna cada caso particular e evidencia a necessidade de ensaios biológicos para juntamente com as análises químicas, nortear ações práticas de monitoramento e controle destas potenciais fontes de poluentes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade e contaminação de águas de escoamento superficial de vias urbanas na cidade de Santos, comparando os dados obtidos entre duas zonas estudadas conforme a sazonalidade dos períodos de chuva úmido e seco.

2.2. Objetivos específicos

São objetivos específicos:

- (i) Avaliar a toxicidade aguda de águas de escoamento superficial de vias urbanas na cidade de Santos;
- (ii) Avaliar a toxicidade crônica de águas de escoamento superficial de vias urbanas na cidade de Santos;
- (iii) Avaliar os fatores físico-químicos e a contaminação por compostos inorgânicos (metais) e compostos nitrogenados;
- (iv) Estabelecer a relação entre toxicidade e contaminação e possíveis padrões sazonais e espaciais de contaminação e toxicidade;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coletas

Para avaliar a influência do uso e tipo de ocupação do solo no escoamento superficial urbano, foram escolhidos dois pontos de coleta na cidade de Santos, em duas zonas diferentes para efeito de comparação entre elas. O primeiro ponto eleito, denominado como ponto 1 foi escolhido em via situada na região de atividade portuária e o segundo ponto, ponto 2, em via situada em zona residencial na avenida da orla da cidade (Figura 2).



Figura 2 - Indicação de localização dos pontos de coleta e dos pluviômetros.

Fonte: CEMADEN, 2015.

Tabela 1 – Coordenadas GPS dos pontos de coleta

Ponto 1	Ponto 2
Latitude -23.965947810915548°	Latitude -23.968200459293573°
Longitude -46.30256193652343°	Longitude -46.338894135937494°

As coletas foram realizadas nas sarjetas das vias utilizando-se funil e becker

de 500mL que, em seguida foram transferidas para recipientes de vidro de borossilicato escuros.

Nas sarjetas, adjacentes as calçadas das vias, propícias para a formação de lamina d'água é onde se encontra maior quantidade de material contaminante. De acordo com Sartor e Boyd (1972), os materiais contaminantes não se encontram distribuídos uniformemente ao longo da superfície das vias. A maior parte do material se concentra nas proximidades da calçada que atua como uma barreira para qualquer partícula que se desloque transversalmente. É algo esperado considerando a tendência do tráfego de “soprar” o material para fora das faixas de rolamento. Entretanto, a quantidade de partículas acumuladas próxima a sarjeta da calçada será bem menor se for permitido estacionamento de veículos no acostamento. Por essa razão, a coleta aconteceu em trechos das vias sem acostamento e nas faixas que recebiam menor contribuição de escoamento superficial proveniente de edificações, pois o ponto de interesse deste estudo é avaliar principalmente os contaminantes oriundos da superfície da faixa de tráfego da via.

A escolha destes pontos, além do tipo de ocupação do solo, também foi norteada pela existência de pluviômetros automáticos gerenciados pela CEMADEN, indicados na figura 2. Os pluviômetros mencionados encontram-se instalados na Avenida Almirante Oswaldo Chrocane e no morro do José Menino. Os pontos de coleta escolhidos estão próximos destes pluviômetros, conforme indicado na figura 2.

Os dados pluviométricos também nos permitiram analisar as diferenças de toxicidade encontradas nas amostras em função da sazonalidade.

Por esta razão, as amostras foram coletadas entre 2016 e 2017, de forma a permitir avaliar o escoamento superficial nas duas estações caracterizadas como período úmido e seco. As coletadas aconteceram entre 26/04/2016 a 29/03/2017. Foram realizadas 4 campanhas de coletas ocorrendo duas no início e fim do período seco (abril a setembro) respectivamente nas datas de 26/04/2016 e 25/09/2016, e outras duas no início e fim do período chuvoso (outubro a março) nas datas de 11/12/2016 e 29/03/2017.

O plano de coletas foi organizado de forma que as amostras fossem obtidas preferivelmente na primeira hora de chuva após período de estiagem com base em

estudos que comprovaram que as primeiras descargas de chuva apresentam maior percentual de toxicidade. Naturalmente, a duração destes períodos de estiagem variou em função das estações, o que refletiu no resultado de toxicidade das amostras.

3.2. Ensaio Laboratoriais

3.2.1. Ensaio ecotoxicológicos

3.2.1.1. Ensaio de Toxicidade Aguda com *D. similis*

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados de acordo com o procedimento descrito em ABNT NBR 12713/2016. A figura 3 ilustra um exemplar de *D. similis*.

Em tubos de ensaio foram adicionados 10 mL de diluição das amostras em diferentes concentrações, sendo que cada uma possuía quatro réplicas, e em seguida cinco neonatas de *Daphnia similis*, com idade entre 6 e 24 horas, foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio. As concentrações testadas foram 6,25%, 12,5%, 25%,50% e 100%. Além dos tubos com as concentrações dos pontos de coleta, também foi empregado um controle com água de diluição em quatro réplicas.



Figura 3 - Exemplar de *Daphnia similis*.

Após esses procedimentos, os testes foram iniciados mantendo-os à temperatura de (20 ± 2) °C, foto período de 12 horas e sem alimentação no período de 48 horas. Ao término do teste foram realizadas as leituras observando-se mortalidade/imobilidade dos organismos presentes nos tubos de ensaio. Com os

dados obtidos foram calculadas as concentrações de efeito através do método Trimmed Spearman Karber.

O resumo dos requisitos para este ensaio está apresentado na tabela 2.

Tabela 2 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade aguda com *D. similis*

Requisitos	Espécie
Organismo -teste	<i>Daphnia similis</i>
Idade das neonatas	6h a 24h
Ensaio	Estático
Período de exposição	48h
Água de diluição	Água reconstituída
Volume da solução-teste/recipiente	10 ml (2ml/organismo)
Número de soluções-teste	cinco, mais controle
Número de réplicas por solução-teste	4
Número de organismos por recipiente-teste	5
Temperatura	(20 ± 2) °C
Fotoperíodo	12 horas luz
Alimentação	Nenhuma
Efeito observado	Imobilidade
Expressão dos resultados	CE50 ou não tóxico

3.2.1.2. Ensaio de Toxicidade Crônica com *D. similis*

Após realizar os testes de toxicidade aguda, iniciaram-se os testes de toxicidade crônica com base na norma OECD (1998). Este ensaio consiste em expor individualmente neonatas de *Daphnia similis* com idade entre 6 e 24 horas, à diferentes concentrações dos compostos analisados. Cada concentração possuía dez réplicas e um controle com água de diluição nas mesmas quantidades de réplicas. A diluição das amostras foi feita nas concentrações de 6,25%, 12,5%, 25%,50% e 100%. O teste teve duração de 21 dias, e durante esse período os organismos permaneceram na temperatura de (20 ± 2) °C, com alimentação diária à base de alga (*Pseudokirchneriella subcaptata*). A cada 2 dias ocorreu a troca das soluções-teste.

Diariamente os organismos foram observados, e com o desenvolvimento das fêmeas também foram analisadas as suas neonatas. Os dados do teste foram analisados estatisticamente através do software TOXSTAT 3.5.

Como pré-requisitos para a análise de variância foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos dados através dos métodos Chi-quadrado (χ^2) e

teste de Bartlett respectivamente. Após esta etapa foi realizada a análise de variância (ANOVA) /teste de Dunnett e determinadas a Concentração de Efeito Não-Observado (CENO) e a Concentração de Efeito Observado (CEO).

Em paralelo a todos os ensaios foram realizados testes de sensibilidade com as *Daphnia similis*. Este teste tem o intuito de analisar a sensibilidade destes organismos e assim saber se estão propícios para serem utilizados em todos os ensaios. O procedimento é semelhante a um teste de toxicidade agudo, porém no lugar das concentrações dos compostos são colocadas 5 concentrações de Cloreto de Potássio como substância tóxica de referência. Os requisitos para este ensaio estão descritos na tabela 3.

Tabela 3 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade crônica com *D. similis*

Requisitos	Espécie
Organismo -teste	<i>Daphnia similis</i>
Idade das neonatas	6h a 24h
Ensaio	Semi estático
Período de exposição	21 dias
Água de diluição	Água reconstituída
Volume da solução-teste/recipiente	20ml
Número de soluções-teste	cinco, mais controle
Número de réplicas por solução-teste	10
Número de organismos por recipiente-teste	1
Temperatura	(20 ± 2) °C
Fotoperíodo	12 horas luz
Alimentação	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
Efeito observado	Reprodução
Expressão dos resultados	CENO e CEO

3.2.1.2. Ensaio de toxicidade crônica de curta duração com *E. lucunter*

Os ensaios ecotoxicológicos com ouriços-do-mar foram realizados de acordo com a norma preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas ABNT-NBR 15.350 (2012) no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília – UNISANTA. O método consiste na exposição de embriões de ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* (Figura 4) a diluições com diferentes concentrações da substância a ser testada, durante o período de desenvolvimento embrionário (de 36 a 42 h). As concentrações utilizadas para a diluição das amostras foram 6,25%, 12,5%, 25%, 50% e 100%, com exceção para as amostras referentes ao início do

período seco na zona portuária, que, em virtude da quantidade de amostra, utilizou-se as concentrações de 4,12%, 8,25%, 16,5%, 33% e 66%.



Figura 4 - Exemplar adulto de ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*).

Através da injeção abdominal de KCl 0,5 molar ou estímulo elétrico de 35 mV foi induzida a liberação dos gametas (Figura 4). No momento da fecundação, foi preparada uma solução salina de espermatozóide que foi adicionada à solução dos gametas femininos. Esta solução foi agitada e a seguir ficou em repouso por 20 minutos, sendo verificado o sucesso da fertilização. Aproximadamente 500 embriões recém-fertilizados foram adicionados às soluções de teste e ao controle.

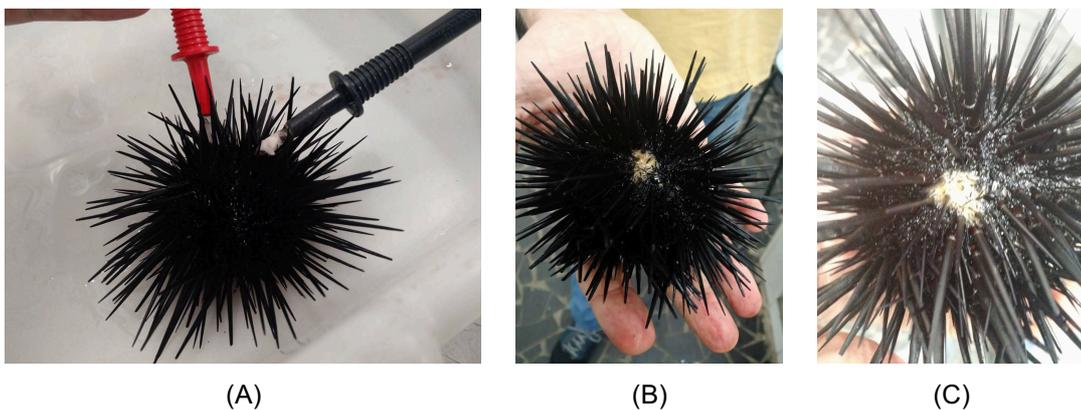


Figura 5 – Estimulação elétrica em ouriços-do-mar para indução de liberação de gametas (A). Coleta de gametas masculinos (B) e femininos (C).

Após o período de 36 a 42 horas em câmara com temperatura entre 26 ± 2 °C retirou-se uma alíquota do controle para verificar se pelo menos 80 % das larvas atingiram o estágio de pluteus que é o critério de aceitabilidade do ensaio (figura 6).

A leitura dos resultados foi realizada em câmara de Sedgwick-Rafter utilizando-se microscópio óptico com aumento de 400x, sendo analisado o número de embriões normais nos 100 primeiros organismos visualizados em cada réplica. A Figura 5 demonstra a diferença entre larvas normais e anômalas. A partir dos resultados foram estabelecidas as concentrações mais altas nas quais não foram detectados efeitos adversos (CENO - concentração de efeito não observado) e as concentrações mais baixas nas quais se observou efeito adverso (CEO - concentração de efeito observado).

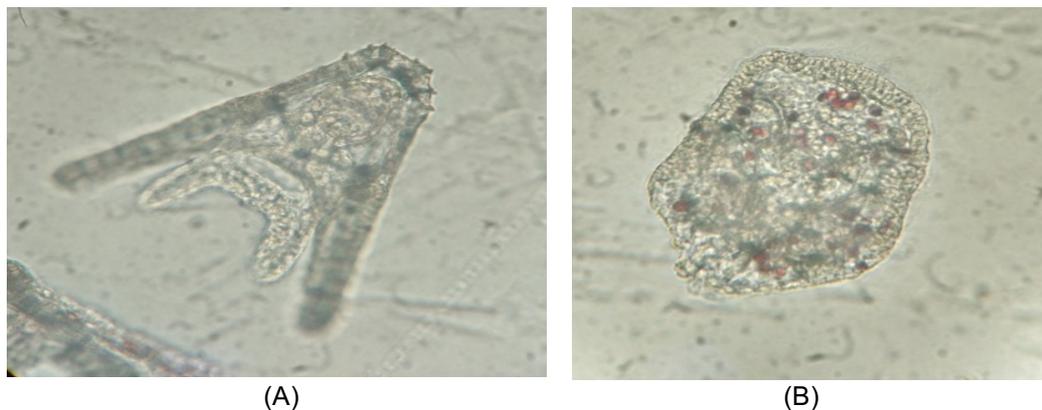


Figura 6 - Larvas pluteus com desenvolvimento normal (A) e anômalo (B).

Para os ensaios embriolarvais, empregou-se o “software” TOXSTAT 3.5 para identificação da Concentração de Efeito Observado (CEO) e da Concentração de Efeito Não Observado (CENO). Os dados foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade de variância através dos métodos do Chi-quadrado (χ^2) e Teste-F, respectivamente. Após passarem nestes pré-requisitos os resultados foram analisados pelo Teste T por bioequivalência a fim de identificar as concentrações que foram estatística e biologicamente diferentes do controle. Utilizou-se uma constante de proporcionalidade $R = 0,86$ conforme proposto por CETESB (2007) para efluentes ou substâncias químicas empregando *E. Lucunter*. Adotou-se um $p < 0,05$ para todas as análises. Onde adequado, os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

Ainda como resultado dos ensaios ecotoxicológicos com ouriço do mar foram calculadas as Concentrações de Inibição a 50% dos organismos expostos (CI50) através do software ICPin.

Na tabela 4, é apresentado o resumo dos requisitos para este ensaio de toxicidade.

Tabela 4 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade aguda com *E. lucunter*

Requisitos	Espécie
Organismo -teste	<i>E. lucunter</i>
Idade do organismo-teste	Embriões com 2h a partir da fecundação
Temperatura	24°C a 28°C
Ensaio	Estático
Duração do ensaio	36h a 42h
Água de diluição	Água reconstituída
Sanilidade	30 a 37
Luz	Usual em laboratório
Fotoperíodo	12 horas luz
Aeração	Não
Recipiente-teste	10 ml
Volume da solução-teste/recipiente	10 ml
Número de soluções-teste	cinco, mais controle
Número de réplicas por solução-teste	4
Número de organismos por milímetro	30
Efeito observado	Retardo ou anormalidade no desenvolvimento embriolarval
Validade do ensaio	Mínimo de 80% de larvas pluteus normais no controle

3.2.2. Análises químicas

3.2.2.1 Análise de elementos presentes nas amostras

A análise química de elementos foi realizada pela de Técnica analítica de fluorescência de raios X (FRX) empregando Espectrômetro de Fluorescência de Raio X BRUKER – Picofox.

A técnica consiste na emissão de feixe de raio x sobre a amostra de forma a causar excitação aos elétrons das camadas K e L dos átomos constituintes da amostra (figura 8). Com a excitação, os elétrons emitem raios X de fluorescência que são captados pelo detector do equipamento (figura 7). A intensidade dos raios X fluorescência é função da concentração, o que torna a análise quantitativa possível através da medição da quantidade de raios X com o comprimento de onda específico de cada elemento.

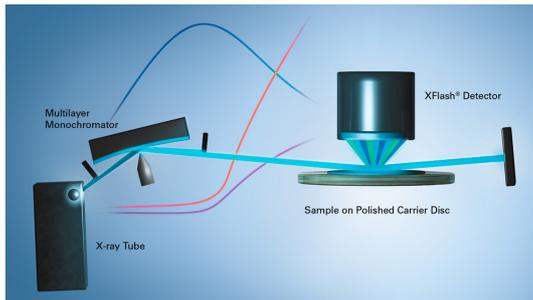


Figura 7 – Princípio de funcionamento do Espectrômetro de Fluorescência de Raio X

Fonte: BRUKER, 2017

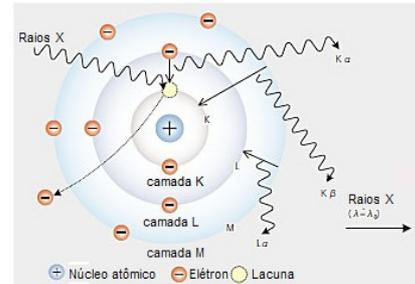


Figura 8 - Ilustração da emissão de raios X fluorescente pelos elétrons excitados das camadas K e L dos átomos

Fonte: SHIMADZU, 2017

Para se realizar as análises químicas com o equipamento fez-se necessário a preparação das amostras. Primeiramente foi separado 1mL da amostra e colocado em um frasco de 2mL. Para a padronização interna, foi adicionada uma quantidade definida de um padrão líquido mono-elemento, no caso, Gálio na concentração de 500 mg/L. Na sequência a mistura foi completamente homogeneizada e 10 µL da solução foram transferidos para um porta amostra por meio de uma pipeta. Por fim, a amostra foi levada a estufa a uma temperatura de 60°C para secagem. Depois de secas, as amostras foram introduzidas no equipamento para a realização da análise.

3.2.2.2 Análise de formas nitrogenadas e fosfatadas

As análises de Ortofosfato, Amônia, Nitrito e Nitrato foram feitas utilizando-se o Ecolit técnico para água doce e/ou salgada da Alfakit. O procedimento de teste para cada composto acima é descrito a seguir:

Ortofosfato

Foram transferidos 5 mL de cada amostra para sua respectiva cubeta de 10 mL. O kit para teste de Ortofosfato é composto por 2 reagentes. O primeiro deles líquido e o segundo em pó. Foram adicionadas 05 gotas do reagente 1 em cada cubeta, que foram fechadas e agitadas.

Na sequência foi adicionada uma medida do reagente 2, na forma de pó, em cada uma das cubetas que novamente foram fechadas e agitadas. As misturas

ficaram sobre repouso por 10 minutos. Após este tempo, as cubetas foram abertas e posicionadas sobre cartela de cores para se fazer a comparação das cores. Conforme figura 9, cada cor na tabela é atribuída uma concentração em função de sua tonalidade e intensidade e através da comparação entre as amostras e a tabela, admitiu-se para cada amostra a concentração correspondente a cor mais aproximada da tabela.



Figura 9 – Misturas das amostras com reagentes para teste de ortofosfato e tabela de cores.

Amônia

O procedimento realizado para o teste de amônia é basicamente o mesmo do ortofosfato diferenciando-se os reagentes. Foram separados 5 mL de cada amostra em cubetas. Para este teste, o kit de reagentes é composto por três reagentes líquidos. Para cada reagente foram adicionadas 3 gotas em cada cubeta que foram fechadas e agitadas. Após a adição dos 3 reagentes, foram aguardados 10 minutos para se realizar as comparações com a tabela de cores (figura 10).

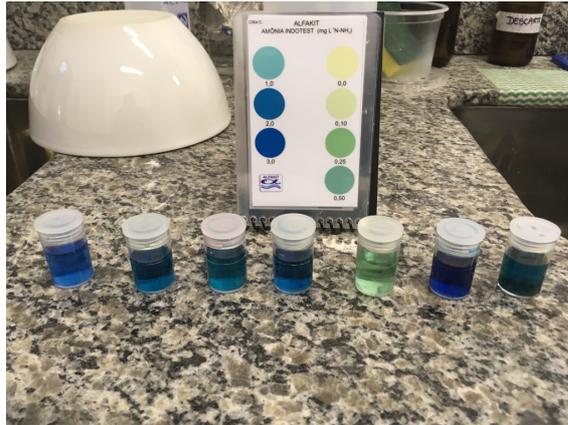


Figura 10 – Misturas das amostras com reagentes para teste de amônia e tabela de cores.

Nitrito

O kit para teste de nitrito é composto por dois reagentes na forma de pó e um na forma líquida. Da mesma forma que os testes descritos anteriormente, também foram transferidos 5mL de cada amostra para cada cubeta. Foi adicionada uma medida do reagente 1 em cada cubeta e os mesmos foram agitados para dissolver o reagente. O mesmo se procedeu para o reagente número 2. Por fim, foram adicionadas duas gotas do reagente 3 e foram aguardados 15 minutos para a comparação das amostras com a tabela de cores (figura 11).



Figura 11 – Misturas das amostras com reagentes para teste de nitrito e tabela de cores.

Nitrato

Para o teste de nitrato foram tomados 5mL de cada amostra e transferidos para cubetas. Em cada cubeta foram adicionados 3 reagentes que fazem parte do kit do teste. O reagente 1 e 2 na forma de pó e o reagente 3 na forma líquida. Após a adição de uma medida do reagente em pó nº 1, os cubetas foram agitados rigorosamente

para dissolver todo o reagente. O mesmo se procedeu para o reagente nº 2. Na sequência foram aplicadas duas gotas do reagente 3 e novamente os cubetas foram fechados e agitados. Após 15 minutos de descanso as cores dos cubetas foram comparadas com as da tabela de cores do teste de nitrato (figura 12).



Figura 12 – Tabelas de cores utilizadas nos testes nos testes de ortofosfato, amônia, nitrato e nitrito.

3.2.3 Medição de pH, condutividade e salinidade

As amostras foram analisadas quanto ao pH, empregando peagâmetro marca Digimed modelo DM22. A condutividade foi medida através de condutímetro Digimed DM31 e para a medição de salinidade foi realizada com refratômetro portátil de sanilidade Instrutherm.

3.3 Análise Fatorial

Os dados também foram avaliados empregando-se o método de Análise de Componentes Principais (PCA) como procedimento de extração a fim de explorar a distribuição das variáveis. O conjunto de dados originais considerou parâmetros químicos: pH, condutividade, formas nitrogenadas (NH₃, NO₂, NO₃), metais (Si, Cl, Ar, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Nb, Nd, Tl) e parâmetros biológicos expressos em unidades tóxicas referentes os testes Agudo e crônico (*D. similis*) e Desenvolvimento embriolarval (*E. lucunter* – ouriço-do-mar).

A Análise de Fatores (AF) foi realizada a partir de uma matriz de correlação, na qual as variáveis foram auto-escaladas empregando o procedimento *varimax normalized*.

Todas as análises foram realizadas utilizando a opção MULTIVARIATE EXPLORATORY TECHNIQUES seguido pela Análise de Fatores do software STATISTICA® (Stat Soft, Inc. 2001; versão 6). Foram extraídos os fatores principais utilizando-se o critério de Kaiser, no qual são considerados os autovalores (*eigenvalues*) acima de 1. O nível de corte para selecionar as variáveis incluídas nestes fatores (*loadings*) foi de 0,30 conforme critérios estabelecidos por Tabachnic & Fidell (1996).

4. RESULTADOS

4.1. Ensaios de ecotoxicidade aguda com *Daphnia similis*

A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade aguda realizados nos dois pontos de coleta, referentes ao início e fim dos períodos de chuva seco e úmido.

4.1.1 Início de período seco

Para as amostras coletadas na zona portuária, a concentração de efeito (CE_{50}) agudo ocorreu somente com a amostra sem diluição (100%), conforme ilustrado na figura 13.

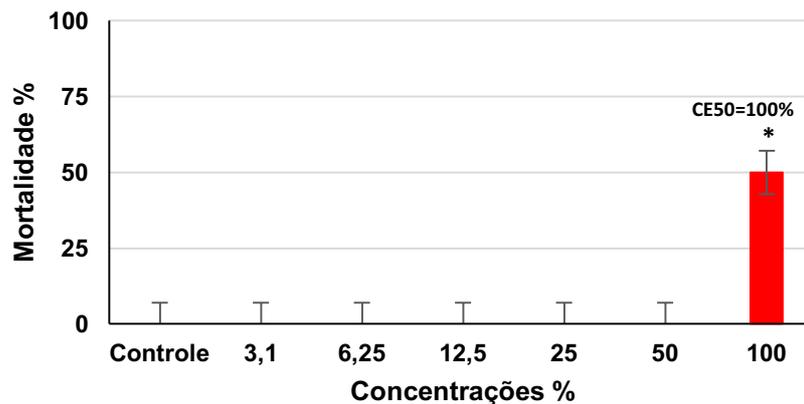


Figura 13 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no início do período seco – Zona portuária. Asterisco indica a concentração de efeito de mortalidade para 50% da população.

Para as amostras coletadas na zona residencial, foi observado efeito a 50% da população dos organismos com uma concentração de 80,79%, de acordo com a figura 14.

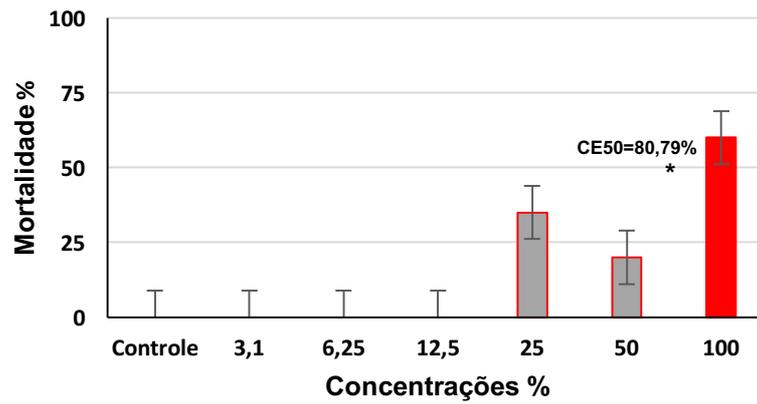


Figura 14 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no início do período seco – Zona residencial. Asterisco indica a concentração de efeito de mortalidade para 50% da população.

4.1.2 Fim de período seco

As amostras coletadas na zona portuária e residencial, no fim do período seco, não apresentaram efeito agudo (figuras 15 e 16, respectivamente).

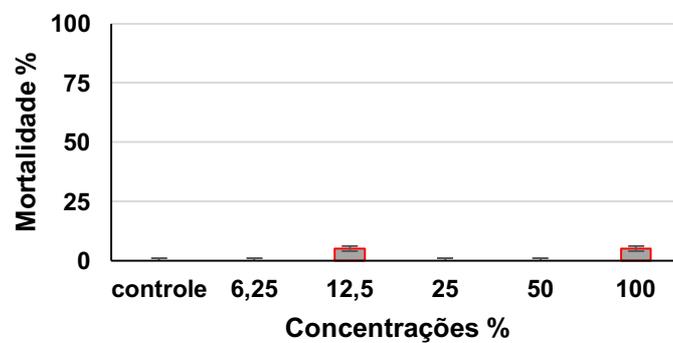


Figura 15 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no fim do período seco – Zona portuária.

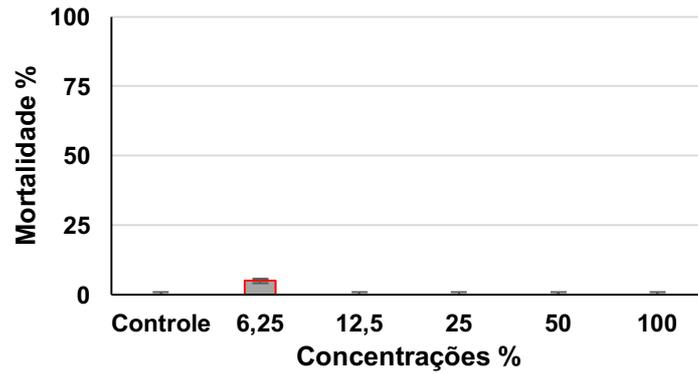
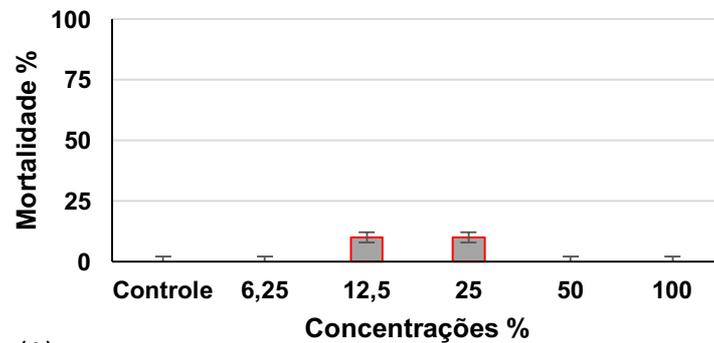


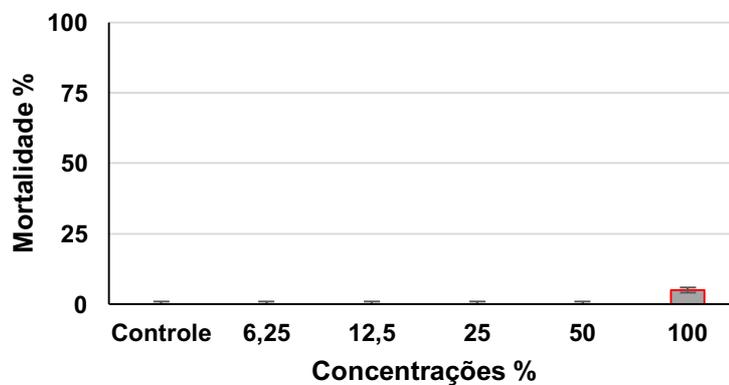
Figura 16 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no fim do período seco – Zona residencial.

4.1.3 Início do período úmido

Na figura 17, são apresentados os resultados dos ensaios efetuados com as amostras colhidas na zona portuária e residencial. Ambos testes não apresentaram efeito agudo.



(A)

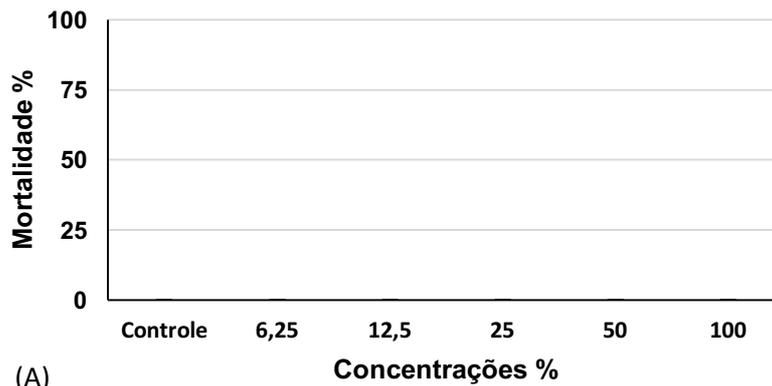


(B)

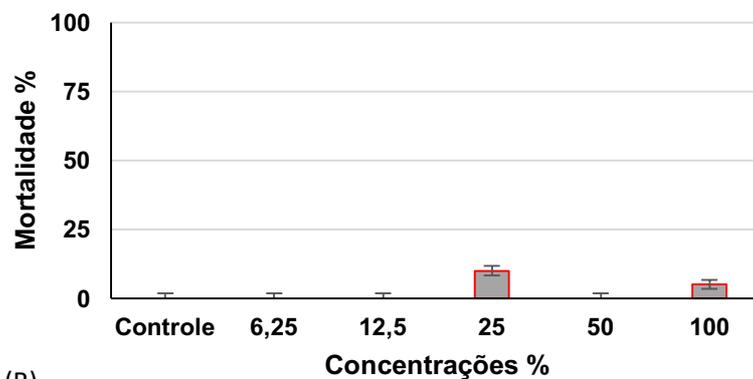
Figura 17 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no início do período úmido – Zona portuária (A) e Zona residencial (B).

4.1.4 Fim do período úmido

As coletas realizadas no fim do período úmido, tanto na zona portuária como na zona residencial, não apresentaram toxicidade (figura 18).



(A)



(B)

Figura 18 – Ensaio de ecotoxicidade aguda para amostra coletada no fim do período úmido – Zona portuária (A) e Zona residencial (B).

4.2. Ensaios de ecotoxicidade crônica com *Daphnia similis*

A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica realizados com *Daphnia similis* nos dois pontos de coleta, referentes aos períodos seco e úmido de chuvas.

4.2.1. Início do período seco

As coletas realizadas na zona portuária no início do período seco apresentaram concentrações CENO =25% e CEO=50% conforme figura 19.

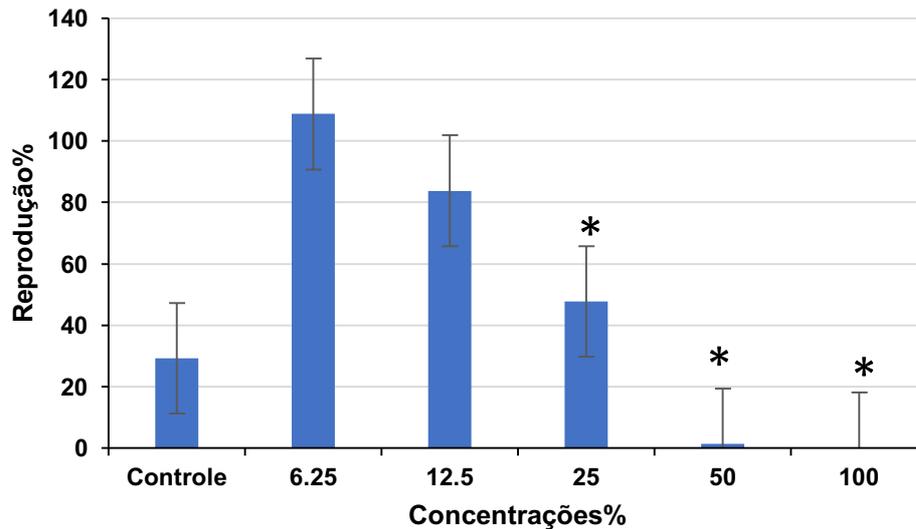


Figura 19 – Ensaio de ecotoxicidade crônica para amostra coletada no início do período seco – Zona portuária. Asterisco significa redução significativa da reprodução em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$).

Nas concentrações diluídas de 6,25% e 12,5% da amostra, os organismos se reproduziram em maior quantidade que no controle.

Não foi realizado o ensaio crônico das amostras referentes a zona residencial coletadas no início do período seco, devido a perda acidental de parte das amostras.

4.2.2. Fim do período seco

Os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica realizados nos dois pontos de coleta inerentes as amostras coletadas no final do período de chuva seco são apresentadas a seguir. Em nenhuma destas amostras se encontrou toxicidade como ilustrado na figura 20.

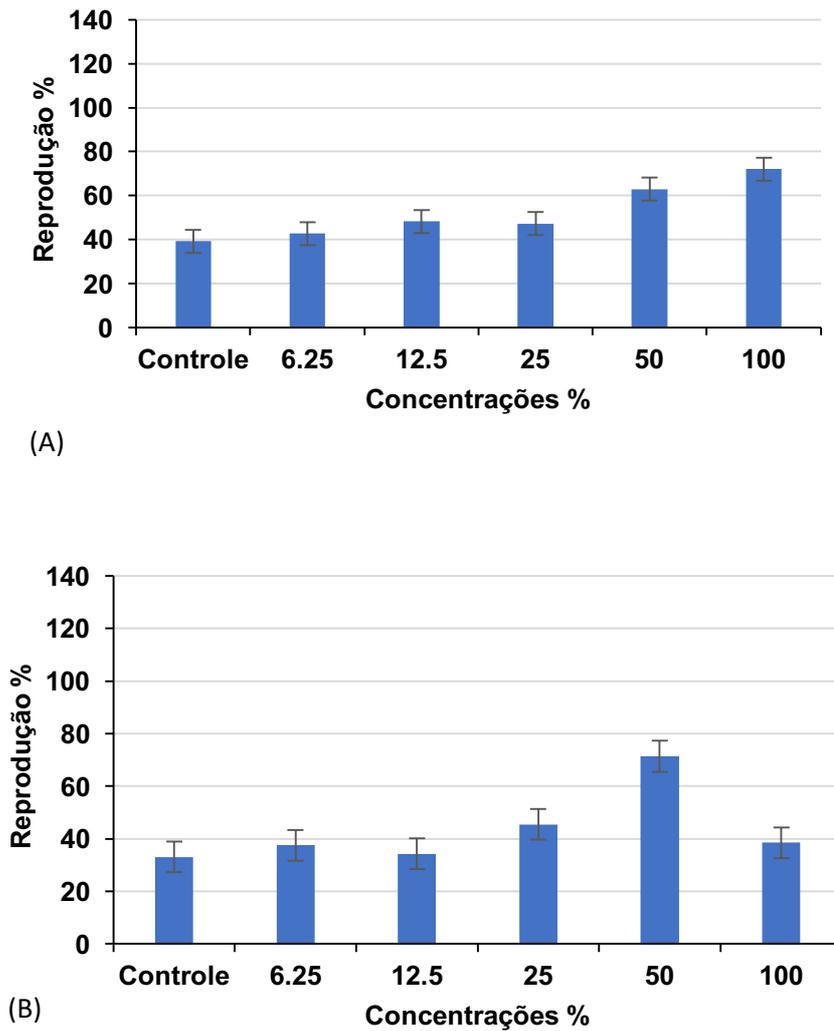


Figura 20 – Ensaio de ecotoxicidade crônica para amostra coletada no final do período seco – Zona portuária (A) e Zona residencial (B).

4.2.3. Início Período Úmido

A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica realizados nos dois pontos de coleta, referentes ao início do período de chuva úmido. Os testes indicaram que as amostras não apresentam toxicidade (figura 21).

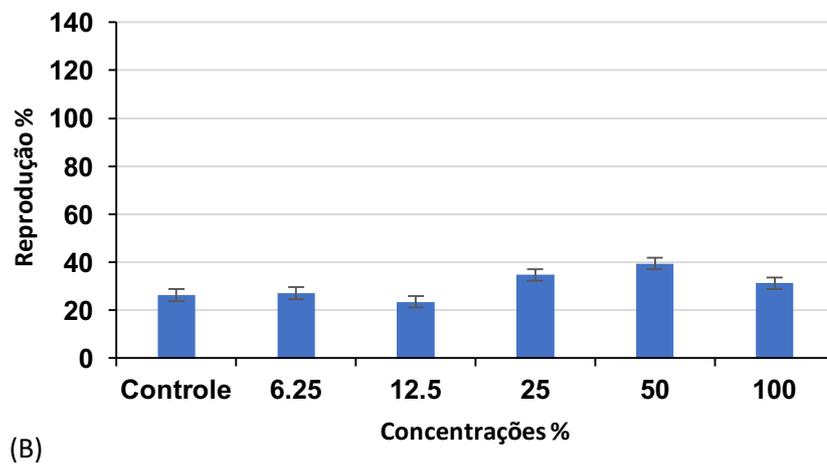
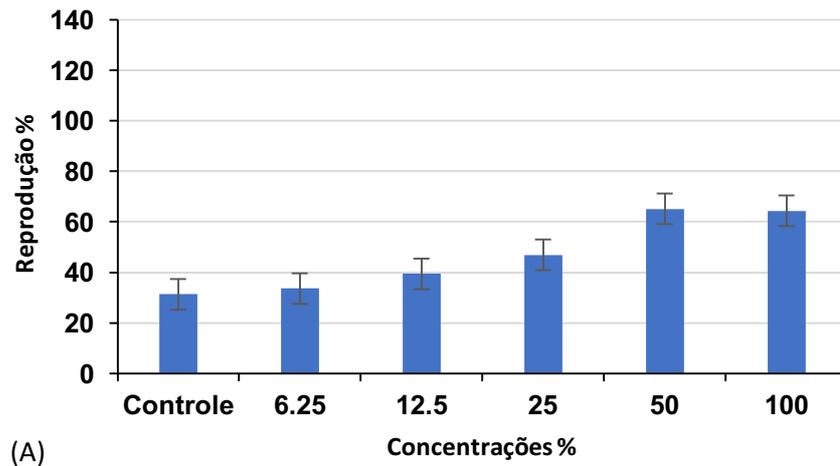


Figura 21 – Ensaio de ecotoxicidade crônica para amostra coletada no início do período úmido – Zona portuária (A) e Zona residencial (B).

4.2.4. Fim do Período Úmido

Os ensaios realizados com as amostras coletadas no fim do período úmido nos dois pontos de coleta, zona portuária e zona residencial, são ilustrados na figura 22. Os testes não identificaram toxicidade em nenhuma das amostras. No teste com amostra coletada na zona portuária os organismos se reproduziram mais que em todos os testes crônicos realizados com *D. similis*.

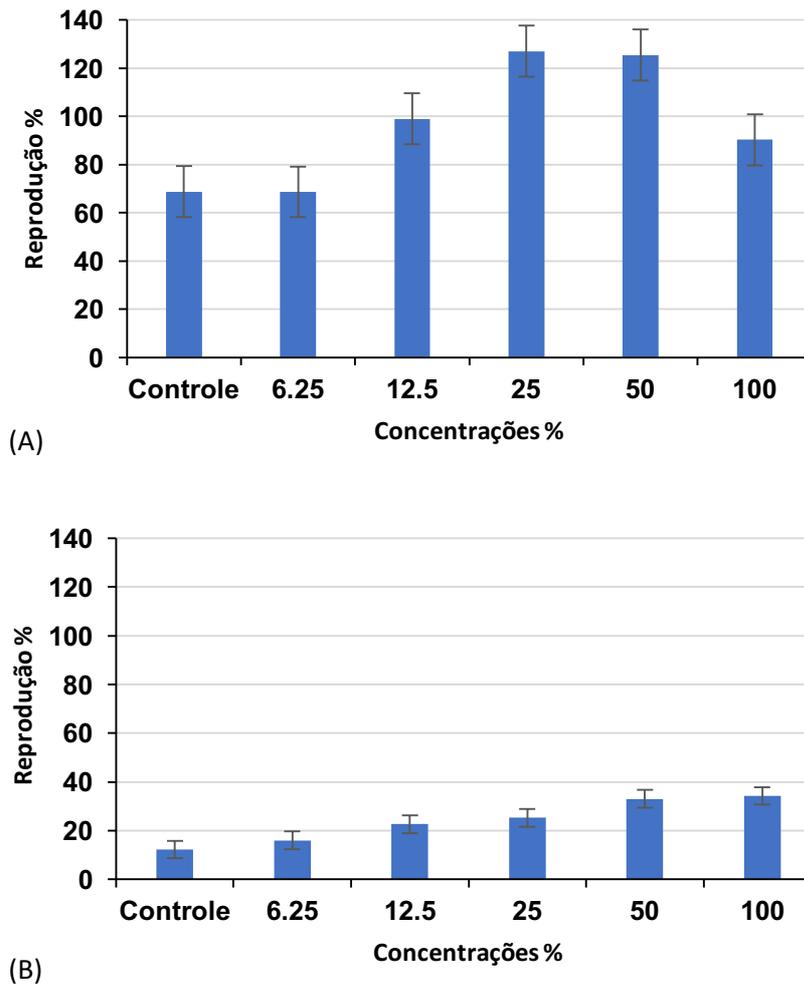


Figura 22 – Ensaio de ecotoxicidade crônica para amostra coletada no fim do período úmido – Zona portuária (A) e Zona residencial (B).

4.3. Ensaio de ecotoxicidade crônica de curta duração com ouriço do mar (*Echinometra lucunter*)

A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica de curta duração com *Echinometra lucunter* (ouriço-do-mar) referente as amostras coletadas nas zonas de estudo nos períodos seco e úmido de chuvas.

4.3.1. Início Período Seco

O ensaio realizado com a amostra coletada no início do período seco apresentou efeito de desenvolvimento anômalo $CI_{50} = 24,86\%$ e Concentração de efeito observado $CEO=33\%$ conforme figura 23.

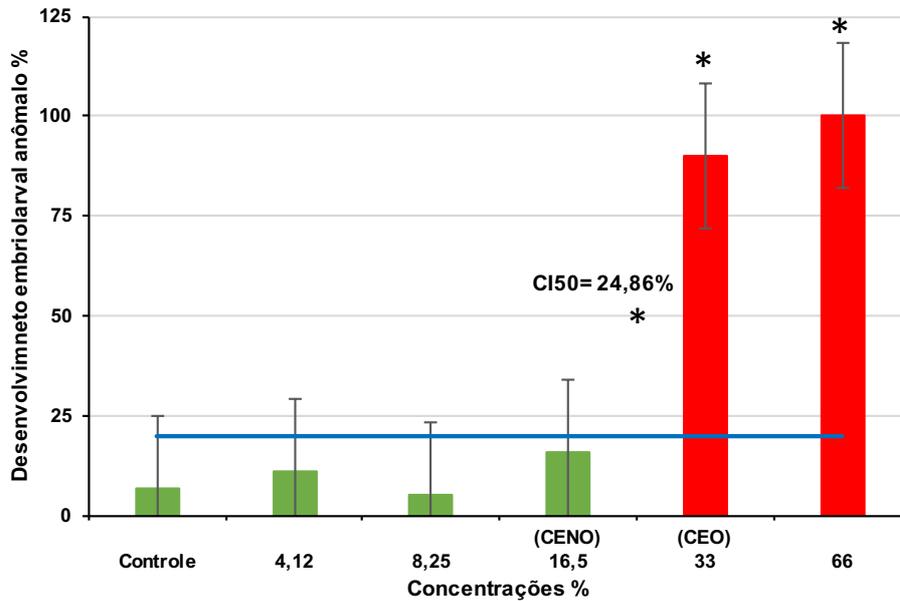


Figura 23 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no início do período seco – Zona portuária. Asterisco significa aumento significativo no desenvolvimento embrionário anômalo em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

A figura 24 ilustra os resultados obtidos através dos testes realizados com amostras coletadas no início do período seco na zona residencial. Os testes indicaram efeito no desenvolvimento embrionário com 25% de diluição da amostra (CEO) e (CI50) com 36,53% de diluição.

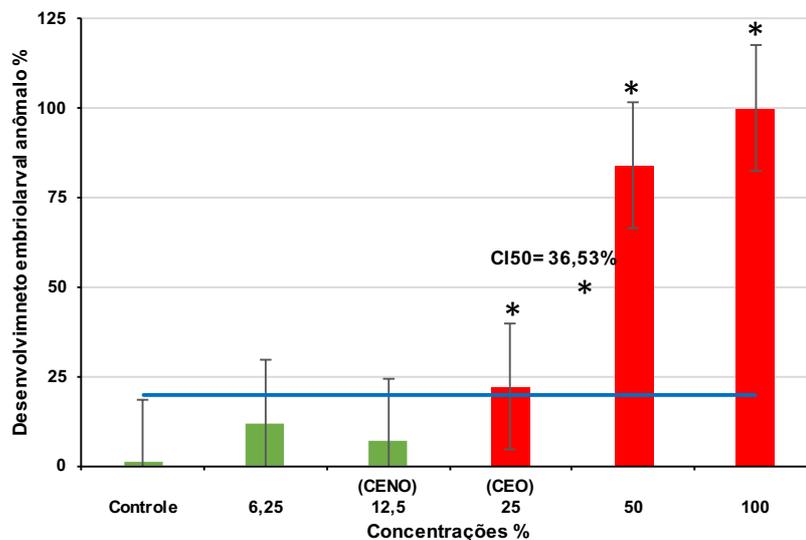


Figura 24 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no início do período seco – Zona residencial. Asterisco significa aumento significativo no

desenvolvimento embrionário anômalo em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

4.3.2. Fim do Período Seco

Os resultados obtidos para o ensaio realizado com amostra coletada no fim do período seco, na zona portuária, indicaram efeito de anormalidade no desenvolvimento embrionário com 25% da diluição da amostra (CEO) conforme figura 25. Não houve CI50.

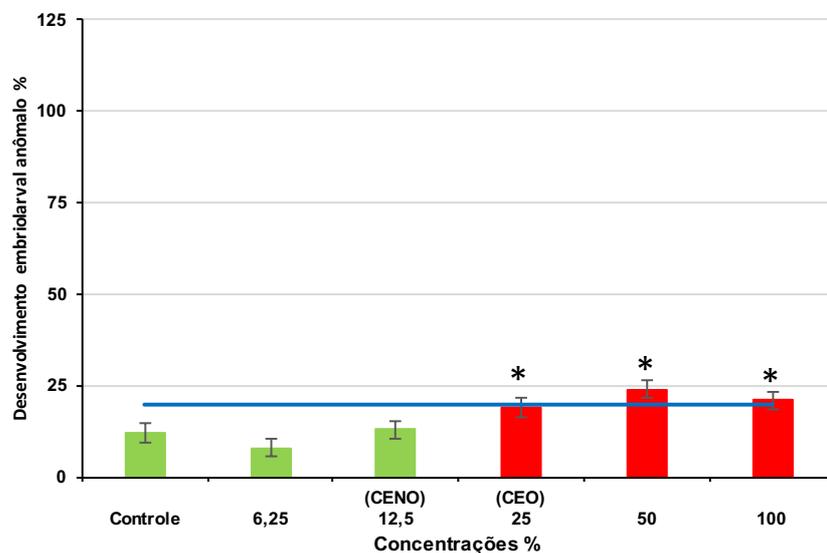


Figura 25 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no fim do período seco – Zona portuária. Asterisco significa redução significativa no desenvolvimento embrionário normal em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

Nos ensaios realizados com as amostras coletadas na zona residencial, no fim do período seco, as lavras de ouriço apresentaram efeitos anômalos na sua formação com CEO=25% e CI50=88,10% (Figura 26).

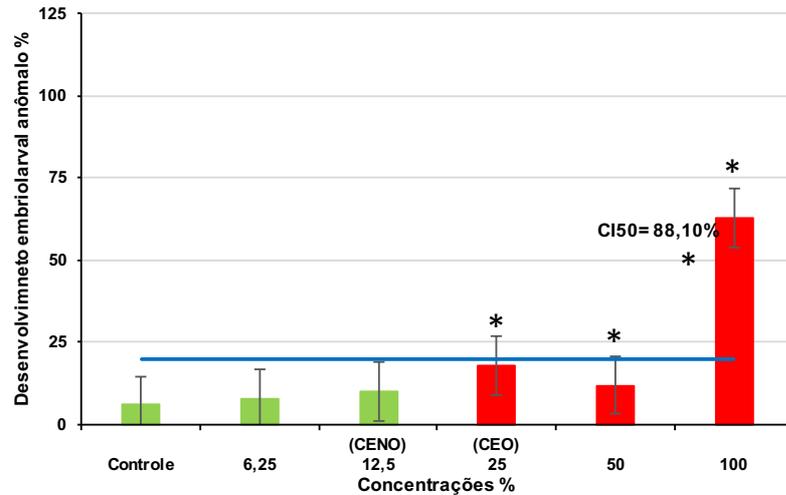


Figura 26 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no fim do período seco – Zona residencial. Asterisco significa redução significativa no desenvolvimento embrionário normal em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

4.3.3. Início do Período Úmido

A seguir são apresentados os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar referente as amostras coletadas na zona portuária. A amostra apresentou CEO=25% e CI50=57% (Figura 27).

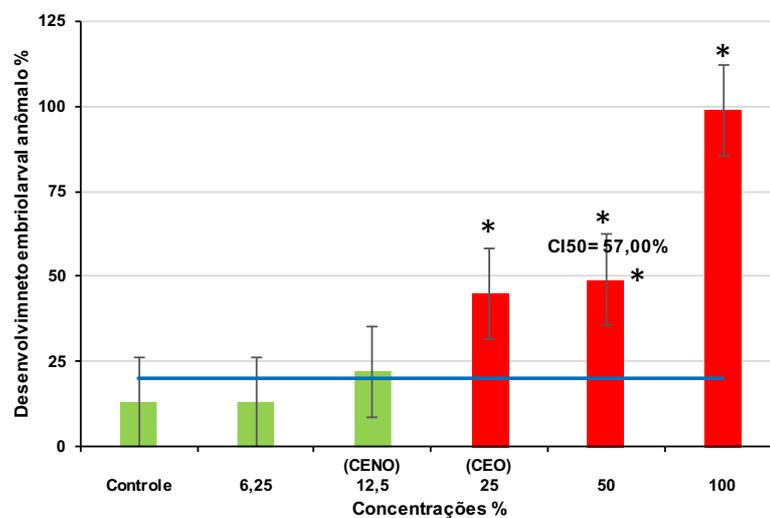


Figura 27 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no início do período úmido – Zona portuária. Asterisco significa redução significativa no

desenvolvimento embriolarval normal em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

O resultado dos ensaios com as amostras coletadas na zona residencial indicou CEO=100% conforme figura 28.

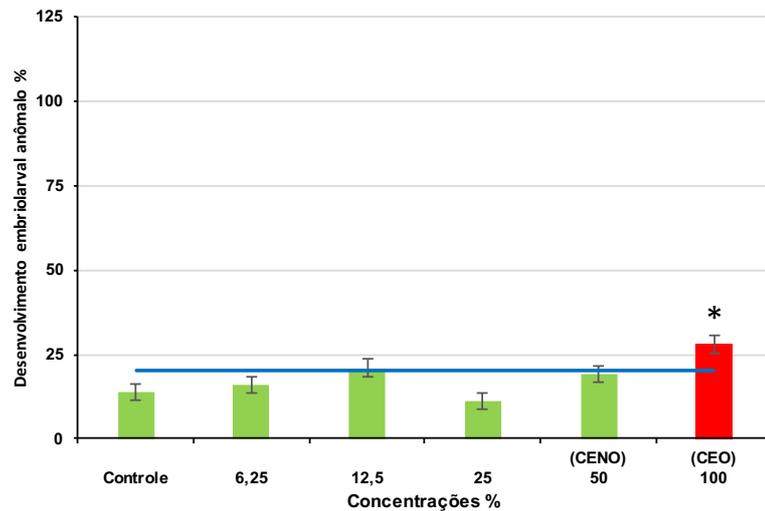


Figura 28 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no início do período úmido – Zona residencial. Asterisco significa redução significativa no desenvolvimento embriolarval normal em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

4.3.4. Fim do Período Úmido

A figura 29 ilustra os resultados obtidos a partir dos ensaios realizados com as amostras coletadas na zona portuária no fim do período úmido: CEO=12,5% e CI50=20,68%.

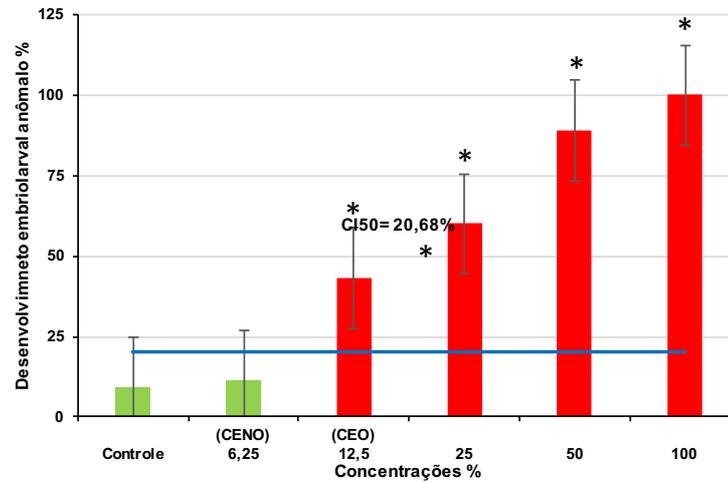


Figura 29 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no fim do período úmido – Zona portuária. Asterisco significa redução significativa no desenvolvimento embrionário normal em relação ao Controle (ANOVA; Dunnett; $p < 0,05$). A linha azul representa 20% de tolerância do controle para validação do teste.

As amostras coletadas na zona residencial não se apresentaram tóxicas, conforme pode ser observado na figura 30.

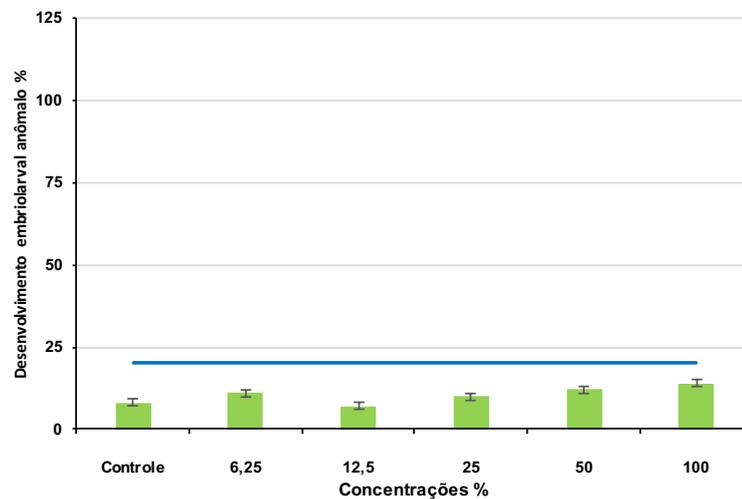


Figura 30 – Ensaio de ecotoxicidade crônica com ouriço do mar para amostra coletada no fim do período úmido – Zona residencial.

A Tabela 5 apresenta o resumo dos resultados dos ensaios de ecotoxicidade e informações relacionadas à pluviometria nos períodos de amostragem.

Tabela 5 – Resumo dos resultados de ecotoxicidade e dados de pluviometria na data e véspera da coleta.

RESUMO DOS RESULTADOS DOS ENSAIOS							
Período de coleta	Local	Ensaio de ecotoxicidade			Período de estiagem antecedente a coleta (dias)	Pluviometria na data coleta (mm/m ²)	Pluviometria na véspera coleta (mm/m ²)
		Agudo com <i>Daphnia similis</i>	Crônico com <i>Daphnia similis</i>	Crônico com <i>Equinometra lucunter</i> (ouriço-do-mar)			
Início do Período seco	Zona Portuária	Tóxico	Tóxico	Tóxico	32	23,67	0
	Zona Residencial	Tóxico	-	Tóxico	26	15,59	0
Fim do Período seco	Zona Portuária	Não tóxico	Não tóxico	Tóxico	1	10,88	17,54
	Zona Residencial	Não tóxico	Não tóxico	Tóxico	1	4,57	4,16
Início do Período Úmido	Zona Portuária	Não tóxico	Não tóxico	Tóxico	5	6,69	0,2
	Zona Residencial	Não tóxico	Não tóxico	Tóxico	5	15,84	0,2
Fim do Período Úmido	Zona Portuária	Não tóxico	Não tóxico	Tóxico	6	16,36	0
	Zona Residencial	Não tóxico	Não tóxico	Não tóxico	6	-	-

4.4 Concentrações dos elementos químicos encontrados

A seguir são apresentados os resultados de análise química realizada pela Técnica analítica de fluorescência de raios X (FRX) empregando Espectrômetro de Fluorescência de Raio X BRUKER – Picofox.

Tabela 6 – Resumo dos resultados de análise química feita com espectrômetro de fluorescência de Raio X e os limites estabelecidos pela Conama 357 para estes elementos.

Elemento	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS								Referência normativa	
	Porto				Residencial				Conama 357	
	Período Seco (mg/L)		Período Úmido (mg/L)		Período Seco (mg/L)		Período Úmido (mg/L)		Cl. 1/2 - Doce (mg/L)	Cl. 1/2 - Doce (mg/L)
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim		
Cl	<LDM	42,1235	233,0315	13,2805	<LDM	83,6545	14,9465	1,7735	-	-
K	60,6245	5,2775	7,6795	15,3205	<LDM	8,0215	3,5045	0,9875	-	-
Ca	107,2995	16,4005	8,5805	12,6075	<LDM	21,7525	9,0105	2,6695	-	-
Ti	0,0444	0,0374	0,0154	0,0404	<LDM	0,0634	0,1484	<LDM	-	-
Mn	0,0494	0,0914	0,1004	0,1034	<LDM	0,0774	0,0534	0,0044	0,1	0,1
Fe	0,9594	0,4504	0,6834	0,8094	<LDM	0,8464	1,7334	-	0,3	0,3
Ni	0,0193	0,0093	0,0003	0,0033	<LDM	0,0043	0,0033	0,0003	0,025	0,025
Cu	<LDM	<LDM	0,0122	0,0072	<LDM	0,0272	0,0242	0,0002	0,009	0,005
Zn	0,0795	0,0215	0,0355	0,0995	<LDM	0,0525	0,1025	<LDM	0,18	0,09
Br	42,6200	0,1170	0,0230	0,0170	<LDM	0,3150	0,0460	0,0130	-	-
Rb	0,3080	0,0060	0,0090	0,0170	<LDM	0,0120	0,0060	<LDM	-	-
Sr	9,2699	0,1039	0,0499	0,0409	<LDM	0,1499	0,0379	<LDM	-	-
UT Aguda <i>Daphnia</i>	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,2378	0,0000	0,0000	0,0000	-	-
UT Crônica <i>Daphnia</i>	2,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-	-
UT Crônico Ouriço	4,4170	0,0000	1,7544	5,4496	2,7609	1,3294	0,0000	0,0000	-	-

Legenda: LDM - Limite de detecção do método

4.5 pH, Condutividade, Salinidade e concentrações de formas nitrogenadas e fosfatadas

A seguir são apresentados os resultados das medições de pH, condutividade, salinidade e os testes de amônia, nitrito, nitrato e ortofosfato.

Tabela 7 – Resultados das medições de pH, condutividade, salinidade e testes de amônia, nitrito, nitrato e ortofosfato.

Amostras	Período de Chuvas (sazonalidade)	pH	Condutividade μS/cm	Salinidade	Amônia mg/L N-NH3	Nitrito mg/L N-NO2	Nitrato mg/L N-NO3	Ortofosfato mg/L PO4
Zona Residencial	Início período seco	-	-	-	-	-	-	-
	Fim do período seco	7,93	604	0	2	0,3	0,7	<LDM
	Início período úmido	7,89	289	0	0,25	0,1	0,7	<LDM
	Fim do período úmido	7,94	47	0	0,1	0,01	0,3	<LDM
Zona Portuária	Início período seco	7,99	44,8	0	2	0	0,1	<LDM
	Fim do período seco	7,96	369	0	2	0,2	1	<LDM
	Início período úmido	7,7	1105	0	2	0,5	2,5	<LDM
	Fim do período úmido	7,79	203	0	3	0,1	2,5	<LDM

4.6 Análise Fatorial dos resultados

O conjunto de dados originais considerou parâmetros químicos: pH, condutividade, formas nitrogenadas (NH₃, NO₂, NO₃), metais (Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr) e parâmetros biológicos expressos em unidades tóxicas referentes os testes Agudo e crônico (*D. similis*) e Desenvolvimento embriolarval (*E. lucunter* – ouriço-do-mar). A matriz formada com os dados utilizados na análise de fatores está expressa na tabela 8.

Tabela 8 - Matriz com os dados empregados na Análise de Fatores (AF).

AMOSTRAS	pH	CONDUTIVIDADE μS/cm	Amônia mg/l N-NH3	Nitrato mg/l N-NO2	Nitrato mg/l N-NO3	Ortofosfato mg/l PO4	Cl	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Br	Rb	Sr	UT AGUDA	UT C DAPHNIA	UT C OURIÇO
RES F SECO	7,93	604	2	0,3	0,7	<LDM	83,654543	8,021532	21,75254	0,063397	0,077389	0,846432	0,004311	0,02721	0,052528	0,315	0,012	0,149928	Não Tóxica	Não Tóxica	1,3294
RES I UM	7,89	289	0,25	0,1	0,7	<LDM	14,946543	3,504532	9,01054	0,148397	0,053389	1,733432	0,003311	0,02421	0,102528	0,046	0,006	0,037928	Não Tóxica	Não Tóxica	Não Tóxica
RES F UM	7,94	47	0,1	0,01	0,3	<LDM	1,773543	0,987532	2,66954	<LDM	0,004389	-	0,000311	0,00021	<LDM	0,013	<LDM	<LDM	Não Tóxica	Não Tóxica	Não Tóxica
POR I SECO	7,99	44,8	2	0	0,1	<LDM	< LDM	60,624532	107,29954	0,044397	0,049389	0,959432	0,019311	<LDM	0,079528	42,62	0,308	9,269928	1,0000	2,0000	4,4170
POR F SECO	7,96	369	2	0,2	1	<LDM	42,123543	5,277532	16,40054	0,037397	0,091389	0,450432	0,009311	<LDM	0,021528	0,117	0,006	0,103928	Não Tóxica	Não Tóxica	Não Tóxica
POR I UM	7,7	1105	2	0,5	2,5	<LDM	233,031543	7,679532	8,58054	0,015397	0,100389	0,683432	0,000311	0,01221	0,035528	0,023	0,009	0,049928	Não Tóxica	Não Tóxica	1,7544
POR F UM	7,79	203	3	0,1	2,5	<LDM	13,280543	15,320532	12,60754	0,040397	0,103389	0,809432	0,003311	0,00721	0,099528	0,017	0,017	0,040928	Não Tóxica	Não Tóxica	5,4496

As Tabelas 9, 10 e 11 apresentam os resultados da PCA-AF.

Tabela 9. Factor Loadings extraídos para cada um dos 3 Fatores principais.

Fator	Extração: Componentes principais			
	Autovalores	% Total	Autovalores acumulados	% acumulada
1	11,91862	45,84083	11,91862	45,84083
2	5,99077	23,04141	17,90938	68,88224
3	3,83484	14,74939	21,74422	83,63163

Tabela 10. Resultado extraído para cada componente principal (Autovalores).

Variáveis	Factor Loadings (Varimax normalized) (PCA)		
	Extração componentes principais		
	Valores marcados > 0,30		
	Fator 1	Fator 2	Fator 3
pH	0,31	0,81	-0,14
Condutividade	-0,27	-0,90	0,02
Amônia mg/l N-NH3	0,34	-0,53	0,30
Nitrito mg/l N-NO2	-0,29	-0,89	0,01
Nitrato mg/l N-NO3	-0,29	-0,77	0,22
Si	-0,27	0,44	-0,78
Cl	-0,16	-0,93	-0,13
K	0,99	0,07	0,09
Ca	0,98	0,15	0,06
Ti	-0,14	0,31	0,82
Mn	-0,07	-0,70	0,49
Fe	0,11	0,04	0,89
Ni	0,88	0,27	0,13
Cu	-0,39	-0,17	0,59
Zn	0,27	0,06	0,90
As	0,98	0,17	-0,02
Br	0,98	0,17	-0,02
Rb	0,99	0,15	0,01
Sr	0,98	0,17	-0,01
UT AGUDA	0,98	0,17	-0,02
UT C DAPHNIA	0,98	0,17	-0,02
UT C OURIÇO	0,61	-0,23	0,30

Tabela 11. *Factor Scores* extraídos para cada um dos locais de coleta.

Zona/ períodos	Factor Scores (PCA) Rotation: Varimax normalized Extração Componentes Principais		
	Fator 1	Fator 2	Fator 3
Residencial / Fim Período seco	-0,292324	-0,13043	0,33799
Residencial / Início Período úmido	-0,657539	0,75009	1,34005
Residencial / Fim Período úmido	-0,615082	0,99068	-1,75989
Portuária/ Início Período seco	2,220786	0,38971	-0,03944
Portuária/ Fim Período seco	-0,351844	0,23232	-0,22592
Portuária / Início Período úmido	-0,120597	-2,04928	-0,48968
Portuária/ Início Período úmido	-0,183401	-0,18308	0,83691

Através da Análise de Componentes Principais, os dados de toxicidade, e de análise e parâmetros químicos foram representados por 3 fatores principais (Tabela 6), os quais representaram 83,62 % da variância total do conjunto inicial de dados. Cada fator é descrito a seguir de acordo com o grupo de variáveis associadas.

O primeiro fator (F1) é predominante e representa 45,84% da variância total dos dados; a este fator estão associados de forma significativa os valores de toxicidade aguda e crônica com *D. similis* e com *E. lucunter* (ouriço-do-mar), os elementos químicos K, Ca, Ni, As, Br, Rb, Sr e Nd e nitrogênio na forma de NH₃.O fator 1 é representativo para a coleta realizada na zona portuária, no início do período seco, os quais apresentaram **Scores** positivos, conforme demonstram a Figura 31 e as Tabelas 10 e 11.

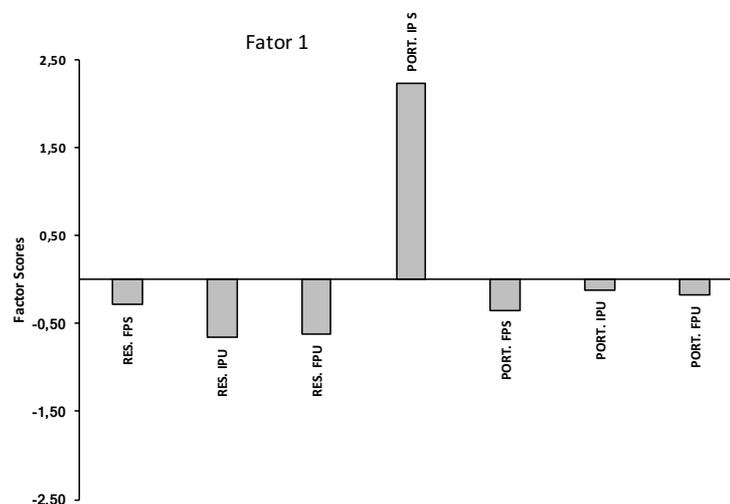


Figura 31 – Representação do Fator 1 em função das coletas de amostras.

O segundo fator (F2) representa 23,04% da variância total dos dados e a este fator estão associados: pH, Si e Ar. O fator 2 é representativo para as coletas realizadas na zona residencial no início e fim de período úmido e na zona portuária no início e fim do período seco os quais apresentaram **Scores** positivos, conforme demonstram a Figura 32 e as Tabelas 10 e 11.

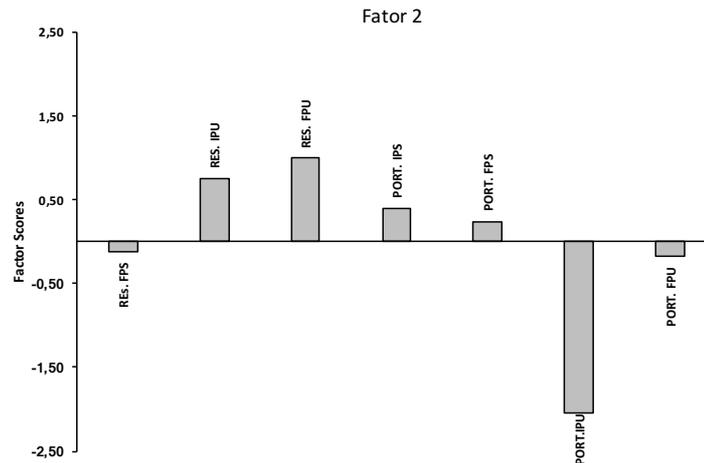


Figura 32 - Representação do Fator 2 em função das coletas de amostras.

O terceiro fator (F3) representa 14,75 % da variância total e a este fator estão associados: Ti, Mn, Fe, Cu e Zn. O fator 3 é representativo para as coletas realizadas na zona residencial no fim do período seco e para zona portuária e residencial no fim do período úmido, os quais apresentaram **Scores** positivos, conforme demonstram a Figura 33 e as Tabelas 10 e 11.

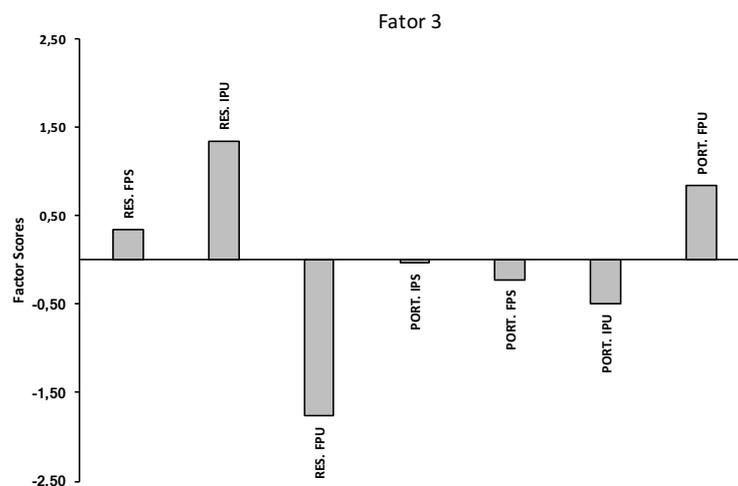


Figura 33 – Representação do Fator 3 em função das coletas de amostras.

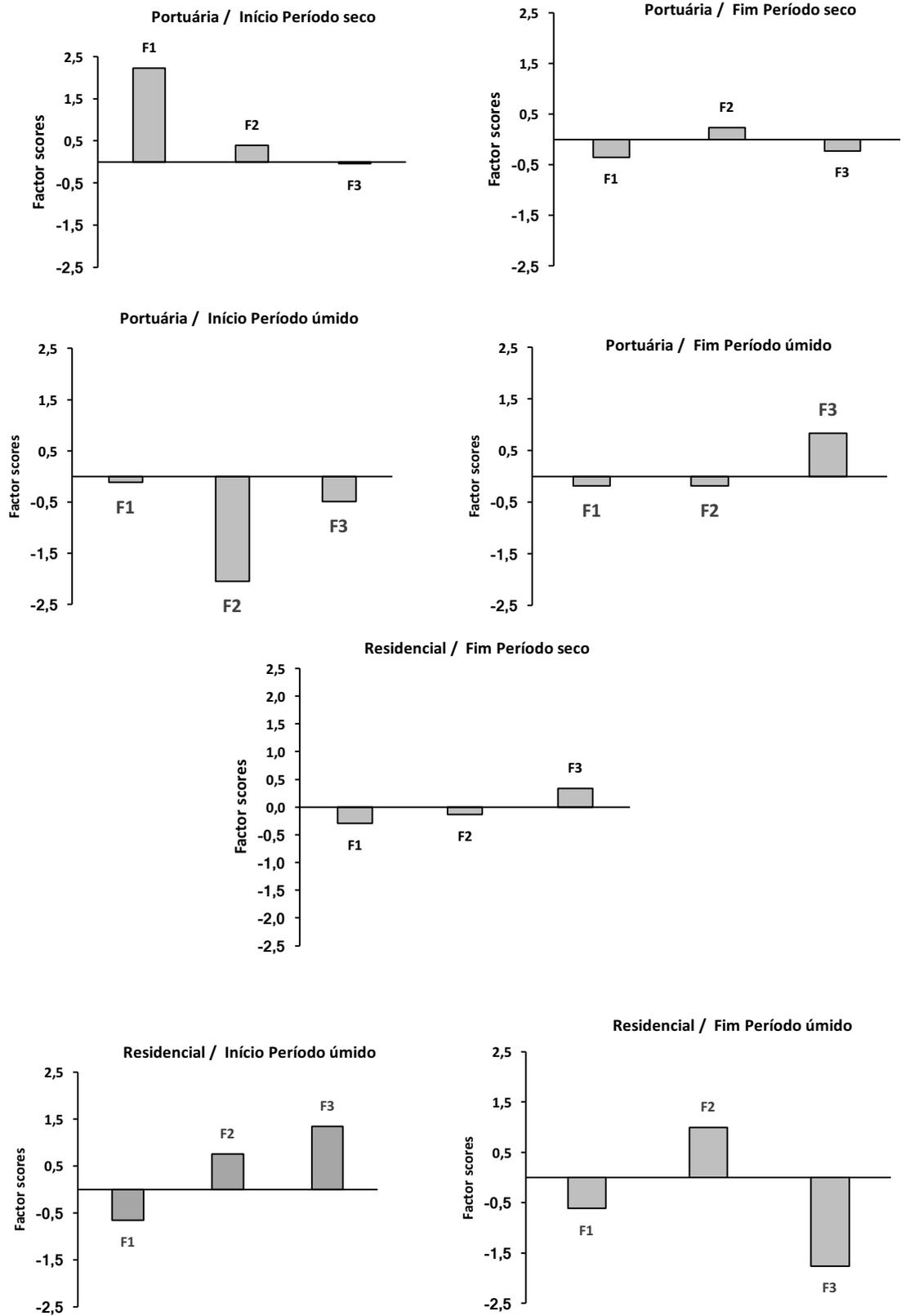


Figura 34 - Representação gráfica da associação dos fatores com cada um dos locais de coleta.

Na figura 35 está ilustrado de forma gráfica bidimensional, as variáveis associadas agrupadas em círculos segundo representatividade de cada fator conforme descrito anteriormente.

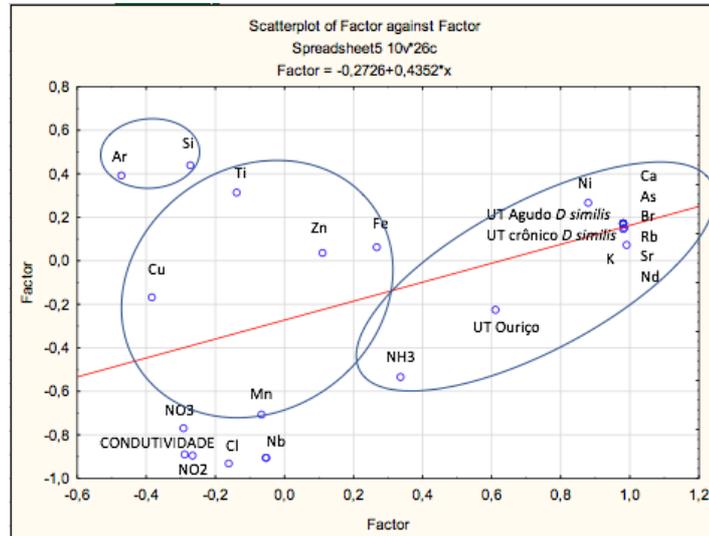


Figura 35 – Associação das variáveis segundo representatividade dos fatores.

5. DISCUSSÃO

Alguns estudos demonstram que as condições climáticas podem influenciar na toxicidade do escoamento superficial de vias urbanas. A existência de longos períodos secos ou úmidos podem impactar significativamente nas emissões de poluentes das descargas de águas pluviais urbanas (LEE et al., 2004).

Os ensaios realizados neste estudo mostraram que o longo período de estiagem que antecedeu as coletas, exerceu influência na toxicidade, uma vez que as amostras coletadas após maior período sem chuvas, no início do período seco, apresentaram toxicidade em todos os ensaios realizados, confirmando a premissa de que a primeira parte do escoamento é a mais poluída, um fenômeno conhecido como “a primeira descarga do escoamento de água pluviais” (DELETIC, 1997).

Segundo Kayhanian et al. (2007) em estudo feito sobre toxicidade do escoamento superficial de vias urbanas em respeito a duração das chuvas, as primeiras amostras se apresentaram mais tóxicas comparadas com aquelas coletadas nos últimos estágios de cada evento. Na maioria dos casos, mais de 40% da toxicidade estava associada com os primeiros 20% de descarga do volume de escoamento pluvial. Indo mais adiante, em média, 90% da toxicidade foi observada durante os primeiros 30% da duração da chuva.

Saget et al. (1995 apud Deletic, 1998) acrescentam que pesquisadores franceses definiram a primeira descarga como ocorrendo quando pelo menos 80% da carga de poluição é transferida nos primeiros 30% do volume de drenagem.

As amostras coletadas no início do período seco se mostraram as mais tóxicas entre todas as coletas, pois todos os ensaios realizados com *Daphnia* e ouriço-do-mar nas zonas portuária e residencial acusaram toxicidade, evidenciando a influência da sazonalidade na concentração de contaminantes. Os valores de toxicidade observados nos ensaios referentes a este período, apresentaram diferentes níveis de acordo com o método de ensaio utilizado.

Nos meses das coletas, ocorreram pequenas variações de intensidade entre as chuvas nas zonas portuária e residencial em dias pontuais, mas salvo esta particularidade, as chuvas nas duas regiões apresentaram a mesma tendência. A zona portuária recebeu uma sensível quantidade a mais de chuva que a zona residencial. Entretanto, no período de 23 a 27 de setembro, quando foi realizada a

coleta no fim do período seco, a diferença de chuvas entre os dois pontos foi bem significativa.

A chuva que ocorreu na véspera da coleta das amostras no final do período seco (tabela 2), apresentou índice pluviométrico de 17,54mm. Um índice bastante considerável que pode ter contribuído para minimizar o acúmulo de contaminantes sobre a via refletindo nos valores de toxicidade destas amostras, não havendo efeito de inibição CI50 para a zona portuária e CI50=88,10% para a zona residencial. Os dados referentes ao fim do período úmido de chuvas na região residencial não puderam ser representados por motivo de falha do equipamento.

Para atendimento da legislação vigente, a Cetesb (2013) recomenda ensaios de ecotoxicidade com *Daphnia* para efluentes lançados em água doce. Segundo estudo de Cordeiro e Rezende (2017), a salinidade de amostras de água coletadas no canal 1, enquadraram-se majoritariamente como água doce no verão e inverno e, no outono e primavera, como salobra. Devido aos períodos de sazonalidade de água doce dos canais, jugou-se necessário a realização de testes de toxicidade com *Daphnia similis*.

Somente as amostras coletadas no início do período seco apresentaram efeito agudo. Os resultados de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, expressos em termos de concentração letal média CE50, aparentemente não apresentaram potencial risco de poluição para o meio aquático, uma vez que os efeitos observados ocorreram com concentrações menos diluídas das amostras, respectivamente 80,79% para zona residencial e 100% para a zona portuária. Portanto, quando as águas de escoamento forem drenadas para os corpos hídricos ocorrerá a diluição do escoamento, o que reduz bruscamente as chances de um efeito agudo de imobilidade ou mortalidade sobre a população que habita o meio aquático onde este escoamento é lançado. Entretanto, isto não pode ser considerado como regra para todos os casos. Pode ocorrer situações em que o escoamento lançado pode ficar confinado por um maior período de tempo em função das características do local onde é destinado e neste caso, não ocorrer diluição do escoamento de imediato, aumentando assim o risco de poluição nesta situação em específico.

Nos ensaios crônicos com *Daphnia similis*, não foi possível realizar o ensaio crônico com as amostras coletadas na zona residencial no início do período seco, em função da quantidade insuficiente de amostra. Como já comentado

anteriormente, os testes realizados com as amostras coletadas na zona portuária, neste mesmo período, apresentaram toxicidade (CENO=25%). Nos demais períodos de coleta e para ambos pontos de amostragem não se encontrou toxicidade em nenhuma das amostras analisadas.

Em relação a região de coleta, de forma geral, as amostras resultantes da zona portuária se apresentaram mais tóxicas que da zona residencial. Trata-se de uma zona com diferentes características de tráfego, com maior volume de veículos pesados e movimentação de cargas a granel.

Quanto aos testes crônicos de curta duração com *E. lucunter*, todos os resultados com exceção das coletas correspondentes ao fim do período úmido na zona residencial acusaram toxicidade. Foram utilizados dois métodos de análise sendo um através da determinação das concentrações CEO e CENO e outro através da determinação da CI_{50} . Em termos de CENO, as maiores concentrações sem efeito observado para ambas as zonas no período seco, permaneceram entre o intervalo de 12,5% a 16,5%. Entretanto, as concentrações CI_{50} apontaram as coletas no início do período seco como as mais tóxicas, ou seja, amostras com efeito sobre 50% da população com concentrações de $CI_{50}=24,86\%$ e $CI_{50} = 36,53\%$ respectivamente para as zonas portuária e residencial.

Para as coletas referentes ao período úmido, a CENO variou entre 6.25% e 50%. Sendo que a CI_{50} destacou a amostra correspondente ao fim período úmido na zona portuária, como a amostra mais tóxica ($CI_{50}=20,68\%$). Aliás, o valor mais tóxico entre todas as amostras. Na zona residencial, os valores de toxicidade para o início e fim do período úmido foram os mais brandos. No início do período úmido a CENO foi de 50% e a CEO de 100%. As amostras coletadas no fim deste período eram não tóxicas.

Os resultados de toxicidade empregando *D. similis* e *E. lucunter* expressaram diferentes valores e esta variabilidade pode ser explicada devido às sensibilidades dos organismos ou fase de vida. Nos ensaios com ouriço, os embriões recém fertilizados, apresentaram maior sensibilidade que as *D. similis*. Segundo estudo realizado por kayhanian (2007), os testes realizados com fertilização do ouriço-dormar apresentaram maior toxicidade em função da sensibilidade destes organismos (gametas) entre todos os métodos avaliados.

De uma forma geral, os resultados de toxicidade crônica demonstraram que a zona portuária apresentou maior toxicidade que a zona residencial e que o período

de estiagem antecedente a chuva de coleta exerceu influência na toxicidade das coletas realizadas no início do período seco.

Em relação à influência do tráfego de veículos na contaminação de vias em alguns estudos este assunto é abordado. Segundo Ball et al. (1997), um número de estudos anteriores levantou a hipótese que a acumulação de contaminantes está diretamente relacionada a densidade do tráfego em determinada seção de via. Entretanto, esta relação direta entre média diária de tráfego e qualidade do escoamento de águas pluviais, não foi encontrada. O tráfego exerce influência na toxicidade do escoamento superficial de vias, mas não numa proporção direta. A relação entre tráfego e contaminantes apresenta bastante variabilidade que é inerente às características e fatores locais das vias e região em estudo, assim como do próprio tráfego.

Em estudo realizado por Davis e Birch (2010), um estudo comparativo de cargas de contaminantes entre o escoamento superficial de uma via urbana principal e uma via local mostrou que as taxas de cobre e zinco da rua local eram comparáveis com a via principal, enquanto o chumbo encontrado na rua local era ainda maior que na via principal apesar da diferença de 45 vezes no volume de tráfego.

Entre os estudos realizados para investigar os contaminantes das águas de escoamento superficial de vias e rodovias, alguns elementos químicos foram identificados através de análises químicas realizadas. Ball et al. (1997), apresentam alguns poluentes que têm sido identificados como mais comuns no escoamento de superfícies de vias e suas prováveis fontes de geração encontram-se descritas na Tabela 9.

De acordo com uma publicação do Departamento de Transportes da Califórnia, nos EUA (CALTRANS, 2003), os veículos, por consequência de óleos e graxas e desgaste dos pneus, contribuem com diversos contaminantes como HPA e metais pesados. O pavimento asfáltico flexível composto por CAP (concreto asfáltico de petróleo) e agregados, ao se deteriorar com a ação do tráfego e intempéries, começa a se desagregar, soltando partículas com metais pesados. Portanto, são diversos os contaminantes transportados no escoamento que podem impactar nos corpos receptores. Contaminantes que por si somente, já possuem propriedades que associadas a partículas, como sedimentos, podem potencializar o grau de contaminação do escoamento superficial de vias. O transporte de sedimentos

através dos sistemas de drenagem representa um forte indicador de contaminação das águas pluviais, pois revela a capacidade de incorporação de contaminantes depositados nas superfícies aos deflúvios superficiais de vias públicas (PROVINELLI et al., 2009)

Não foi foco deste trabalho estudar a relação entre volume de tráfego e toxicidade do escoamento urbano, mas pode-se observar que as datas das coletas realizadas na região portuária onde foram encontrados maiores valores de toxicidade, coincidiram com os períodos de maior volume de tráfego durante a safra da soja.

Tabela 12 – Contaminantes encontrados em escoamentos sobre superfícies de vias e suas fontes de geração.

Constituintes	Fontes Primárias
Particulado	Desgaste de pneus, veículos, deposição atmosférica, manutenção
Nitrogênio, fósforo	Aplicação de fertilizantes a margem de rodovias
Chumbo	Escapamento dos veículos, desgaste dos pneus, óleo de lubrificação e graxa, desgaste de rolamentos
Zinco	Desgaste de pneus, óleo de motor, graxa
Ferro	Ferrugem, peças móveis do motor, estruturas de aço (como guard rail em rodovias)
cobre	Chaparia de metal, desgaste dos rolamentos e escovas, peças móveis do motor, desgaste das pastilhas do freio, fungicidas e inseticidas
Cadium	Desgaste de pneu, aplicação de inseticidas
Cromo	Chaparia de metal, partes móveis, desgaste das pastilhas de freio
Níquel	Escapamento de combustível diesel e de petróleo, óleo lubrificante, chaparia de metal, desgaste de buchas, desgaste da pastilha de freio, pavimento asfáltico
Manganês	Partes móveis do motor
Sulfato	Calçadas, combustíveis
Petróleo	Derramamentos, vazamentos ou sopro de lubrificantes de motor, fluidos hidráulicos, superfície asfáltica lixiviada
PCB	Deposição atmosférica, catalisador de PCB em pneus sintéticos

Fonte: Ball et al. (1997)

Através de análises químicas realizadas neste estudo, foram identificados elementos químicos presentes nas amostras de escoamento superficial coletadas. Não existe uma legislação específica para regulamentação dos limites permissíveis

de concentrações de metais nas águas de escoamento superficial urbano. Pelo fato da água de escoamento superficial de vias urbanas não ser considerada potencial poluidora como os efluentes domésticos ou industriais, as redes coletoras de drenagem urbana são projetadas para destinar estes resíduos diretamente aos corpos hídricos e por esta razão, para efeito de comparação e referência de valores, além das referências de concentrações encontradas na literatura, foi utilizada a resolução Conama 357/2005 que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelecimento de condições e padrões para lançamento de efluentes (BRASIL, 2005). Foram adotados os limites estabelecidos para os parâmetros referentes as Classes 1 e 2 para águas doces e salobras, que entre outras atribuições são destinadas à proteção das comunidades aquáticas.

Para se determinar a correlação entre as amostras coletadas e a relativa importância entre as variáveis, foi utilizada a análise PCA, onde foram determinados 3 fatores (F1, F2 e F3) que coletivamente explicaram 83,63% da variância entre toxicidade, metais e formas nitrogenadas. Os fatores F1 e F3 apresentaram elementos que se relacionam com os resultados de toxicidade encontrados para *Daphnia* e ouriço, portanto são objetos de maior interesse para este estudo.

O primeiro fator (F1) representa 45,84% da variância total dos dados e a ele; estão associados de forma significativa os valores de toxicidade aguda e crônica com *D. similis* e crônica com *E. lucunter*, pH, os elementos químicos K, Ca, Ni, As, Br, Rb, Sr e Nd e nitrogênio na forma de NH_3 . O fator 1 é representativo para a coleta realizada na zona portuária, no início do período seco.

De forma geral, as amostras coletadas na zona portuária apresentaram os maiores valores de amônia e nitrato, ultrapassando os limites estabelecidos pela Conama 357. A análise PCA revelou uma proximidade entre amônia e toxicidade com ouriço-do-mar, indicando uma relação entre estas duas variáveis. A toxicidade da amônia em relação ao ouriço-do-mar já foi pesquisada em alguns estudos (PIEDRAS, 2006; PUSCEDDU, 2007; FURLEY, 2009;). Segundo Piedras (2006), a presença de derivados do nitrogênio na água indica processos biológicos ativos influenciados por poluição orgânica, podendo, em altas concentrações, causar danos fisiológicos e até mortalidade em organismos aquáticos. Em condições fortemente alcalinas, ocorre o

predomínio da amônia livre (ou não ionizável), que é bastante tóxica a vários organismos aquáticos (FUNASA, 2014).

De acordo com estudo de Proserpi (2002), os valores de Cl_{50} para amônia total medidos em testes com exposição de ouriços a NH_4Cl , variaram aproximadamente entre 1 e 3 mg/L. Segundo César et al. (2004), em estudo de toxicidade onde três espécies de ouriço foram expostas a esta mesma substância, os valores variaram entre 1,94 e 3,02 mg/L. O efeito de toxicidade da amônia em muitos organismos é atribuído a amônia não ionizada (NH_3) sendo a amônia total considerada como menos tóxica (Cesar, 2004 apud Sarda e Burton, 1995). Portanto os valores de amônia costumam ser expressos em termos de amônia não ionizada. O intervalo de referência citado acima (1,94 e 3,02 mg/L) corresponde a um intervalo de variação de Cl_{50} entre 0,08 e 0,15 mg/L de amônia não ionizada, após conversão (PROSPERI, 2002). Para as amostras coletadas neste estudo, cinco entre oito apresentaram concentração de amônia igual ou superior a 2mg/L o que corresponde a valores de amônia não ionizada superiores a 0,08 mg/L. As amostras referentes ao período úmido da zona residencial, com valores inferiores ao intervalo de referência, não apresentaram toxicidade. As amostras mais tóxicas referentes ao fim do período úmido, na zona portuária, apresentaram o maior valor de concentração de amônia 3 mg/L ou 0,15 mg/L de amônia não ionizada. Embora as formas nitrogenadas nitrito e nitrato não tenham sido relacionadas com a toxicidade crônica dos testes com ouriço, a sua interação juntamente com a amônia, pode ter como consequência a aumento de mortalidade (PIEDRAS, 2006). Nota-se com os resultados obtidos, que a maior sensibilidade das larvas de ouriço, em relação as *Daphnia*, determinou que fossem mais afetadas pelas formas nitrogenadas.

Embora não tenha sido possível determinar com exatidão, a fonte específica da origem destas formas, em estudo realizado por Yang e Toor (2017), a precipitação atmosférica respondeu como principal fonte de nitrato no escoamento superficial. Ainda segundo Bohemen e Laak (2003) os poluentes podem permanecer por longo período no ar e se deslocar por longas distâncias antes de se depositarem. Entre outras, o tráfego é apresentado como fonte de deposição atmosférica, sendo que 60% a 90% da deposição atmosférica se origina de locais distantes. O escoamento superficial das águas pluviais, associado às deficiências do

sistema de limpeza pública, constitui fonte difusa de nitrogênio de difícil caracterização. Entretanto, a predominância das formas reduzidas de nitrogênio (amônia) pode significar que o foco de poluição se encontra próximo e se prevalecerem o nitrito e o nitrato, denota que o foco se encontra distante (CETESB, 2009). O nitrogênio, no escoamento superficial urbano se origina a partir de fontes difusas que incluem partículas atmosféricas e depósitos de superfície (por exemplo, poeira da estrada) (KOJIMA et al., 2011). O aumento das superfícies impermeáveis nas bacias hidrográficas urbanas resulta no aumento das concentrações de nitrogênio no escoamento das águas pluviais. No entanto, informações limitadas estão disponíveis sobre as fontes e os controles mecanicistas sobre liberação e transporte de nitrogênio nas bacias residenciais (YANG e TOOR, 2017).

Dentre os metais correlacionados aos testes de toxicidade no fator 1, representativo para as amostras coletadas no início do período seco, na zona portuária, a concentração de 42,62 mg/L de bromo encontrada, destacou-se devido a magnitude do seu valor. Não foram encontradas muitas referências sobre toxicidade causada por bromo a organismos aquáticos, mas, segundo o manual de emergências químicas da Cetesb, a concentração de 10mg/L causaria morte a espécies de organismos aquáticos como a *Daphnia magna*. O tempo de exposição não foi especificado, mas a magnitude do valor de concentração de bromo encontrada na amostra supera em quatro vezes a referência dada pela Cetesb. O bromo forma compostos facilmente solúveis. Pode ter vários níveis de oxidação (1, 1, 3, 5, 7) o mais difundido sendo 1 (brometo). O brometo (um elemento do grupo halogênio) não está presente na natureza em seu estado livre. Existem inúmeros fatores antropogênicos responsáveis pela presença de bromo em áreas urbanas e rurais, incluindo a presença de águas residuais, vazamentos nos sistemas de esgoto, pesticidas (WINID, 2015). Em estudo de bromo em escoamento superficial de vias, quando foram tomadas amostras do ar nas proximidades das vias estudadas, Sollars et al. (1982) julgou razoável concluir que os altos níveis de Bromo encontrados em amostras de ar eram provenientes das emissões do escapamento dos veículos. Assim como o escoamento superficial, a deposição atmosférica possui origem de poluição difusa e, portanto, a origem das concentrações encontradas deste metal é proveniente de deposição atmosférica.

Ainda no fator 1 da análise de PCA, o elemento Níquel figura como um dos metais relacionados a toxicidade dos organismos teste e mais relacionado ainda a toxicidade causada aos organismos *D. similis*. O que é natural pois a concentração de efeito (por exemplo, EC50) de Níquel é diferente entre vários organismos e espécies (LIU et al., 2014). Apesar de haver diversos estudos sobre exposição de níquel a humanos e roedores, o seu excesso no meio ambiente permanece em grande parte não descrito. Níveis substanciais de níquel são introduzidos no ambiente através de atividades antropogênicas. Quando liberado no meio ambiente a partir de resíduos de fabricação humana, o níquel, pode assumir formas solúveis e insolúveis. Em ambientes aquáticos, o níquel em partículas permanece próximo da fonte de contaminação, mas o níquel solúvel é móvel e pode ser incorporado em solos e sedimentos a maiores distâncias (RUDE et al., 2013). Existem várias fontes difusas (intemperismo natural, deposição atmosférica, escoamento superficial) que contribuem para exposição do níquel no meio ambiente (BRIX et al., 2017), mas segundo alguns estudos (BALL et al., 1997; KLIMASZEWSKA et al., 2007), as concentrações de níquel no escoamento superficial têm sua origem através da emissão do escapamento e partes dos veículos, lataria, pastilhas de freio, desgaste do motor, vazamento de fluidos e o próprio desgaste do pavimento asfáltico.

As maiores concentrações de Níquel foram encontradas na zona portuária e principalmente no período seco. O início do período seco apresentou a maior concentração do metal, 0,0193 mg/L. Pane et al. (2004) e Munzinger (2003) observaram efeitos nos organismos *Daphnia* em concentrações de níquel superiores a 0,04 mg/L. Embora os valores encontrados neste estudo sejam inferiores a 0,04 mg/L, deve-se observar que as amostras analisadas não foram expostas exclusivamente a concentrações de níquel, e deve-se se considerar a interação química entre todos os elementos presentes na amostra. Em estudo realizado por Kayhanian (2003), em 83 pontos de vias com baixo, médio, médio alto e alto tráfego, monitorados por quatro anos, a concentração média de níquel total encontrada nas vias foi de 0,0101 mg/L. Portanto, o valor encontrado neste estudo encontra-se compatível com os valores de concentrações encontrados na literatura. Além disso, deve-se considerar ainda, que pequenas concentrações de metais encontradas incorrem na possibilidade de causar danos significantes aos organismos aquáticos no meio ambiente, pois embora a sensibilidade dos organismos varie em relação

aos tipos de metais, a bioacumulação potencializa o efeito nocivo ao longo da cadeia alimentar (BRAGA et al., 2005).

O segundo fator (F3), representa 23,04% da variância total dos dados e a ele estão associados de forma significativa os valores de toxicidade crônica com *E. lucunter*, os elementos químicos Mn, Fe, Cu, Zn e nitrogênio na forma de NH₃. O fator 3 é representativo para as coletas realizadas na zona residencial, no final do período seco e início do período úmido e na zona portuária, no fim do período úmido. A zona residencial, no início do período seco apresentou a maior concentração de ferro (1,7334 mg/L), muito superior ao limite da conama 357 (0,3 mg.L⁻¹) e valores de cobre e zinco superiores aos limites referendados na literatura (MÁXIMO et al., 2008), entretanto estas amostras não acusaram toxicidade por razão dos metais presentes se encontrarem sequestrados e portanto não biodisponíveis (ABESSA, 2002).

Entre estas amostras, somente a coletada na zona portuária, no fim do período úmido apresentou toxicidade e o por sua vez, o maior valor encontrado entre os testes com *E. Lucunter*.

Dentre os metais detectados, Fe, Cu, Zn e Mn são mais comumente citados na literatura pertinente a escoamento superficial de vias e rodovias. Muito embora Fe e Mn sejam macro elementos, são encontramos assim como Cu e Zn no escoamento superficial originados de ferrugem, peças móveis do motor, estruturas de aço (como guard rail em rodovias), desgaste de rolamentos, escovas do motor, pastilhas de freio (BALL et al., 1997). O cobre em específico pode ainda se originar de fungicidas e inseticidas aplicados nos arredores da via. As amostras referentes a zona portuária, no fim do período úmido apresentaram o maior valor de toxicidade entre todos os testes com *E. lucunter*. Estes elementos químicos, juntamente com nitrogênio na forma de amônia, respondem pela toxicidade encontrada. As concentrações de zinco encontradas nas amostras residenciais e portuárias variaram entre 0,0215 e 0,1025 mg/L, as concentrações de cobre variaram entre 0,0072 e 0,0272 mg/L, as concentrações de manganês entre 0,0044 e 0,1034 mg/L e as de ferro entre 0,4504 e 1,7334 mg/L. De acordo com a literatura, as concentrações de zinco encontradas em alguns estudos variaram de 0,073 a 1,09 mg/L (KLIMASZEWSKA 2007) e de 0,0364 a 0,6941 mg/L (DAVIS & BIRCH, 2010).

As concentrações de cobre variaram de 0,03 a 0,34 mg/L (DRAPPER et al., 2000) e de 0,0077 a 0,2133 (DAVIS & BIRCH, 2010). As de manganês variaram entre 0,0111 e 0,104 mg/L (BACKSTROM et al., 2003) e as de ferro entre 0,385 e 3,35 mg/L (BACKSTROM et al., 2003).

Os valores encontrados nas amostras de uma forma geral, encontram-se compatíveis com as concentrações encontradas na literatura, entretanto, superam em vários pontos de estudo, os limites máximos determinados pela Conama 357. É o que acontece, principalmente nas amostras coletadas no fim do período úmido, na zona portuária, cuja toxicidade encontrada foi a maior entre todos os valores para o ouriço-do-mar. Nestas amostras, as concentrações de zinco, cobre, ferro e manganês são superiores aos limites da legislação. Estudos realizados por Watanabe et al. (2011), através de métodos (US-EPA, 1991) e (US-EPA, 1996) com o ouriço-do-mar roxo (*Strongylocentrotus purpuratus*) demonstraram que o zinco foi o principal tóxico no escoamento da estrada. O que é devido aos veículos motorizados (ANGRILL et al., 2107). Máximo et al. (2008) apresentou intervalos de variação de valores de Cl_{50} (mg/L) de substâncias de referência como Zn e Cu para as espécies de ouriços-do-mar normalmente utilizadas em testes embrio-larval no Brasil. A concentração de zinco variou entre 0,03 e 0,14 mg/L para a espécie *Lytechinus variegatus* e a concentração de cobre entre 0,0199 e 0,024 mg/L para a *E. Lucunter*. Em outros testes de toxicidade com *L. variegatus*, os valores de Cl_{50} (mg/L) variaram entre 0,05 e 0,12 (PROSPERI, 2002). Todas as amostras ensaiadas apresentaram valores de concentração de zinco superiores a 0,03 mg/L com exceção das coletas referentes ao fim do período seco, na zona portuária e início do período seco na zona residencial, cujas análises químicas não foram realizadas. Portanto, é razoável afirmar que as concentrações de zinco encontradas influenciaram nas anomalias no desenvolvimento embriolarval nos ensaios com ouriço, inclusive com certa relação proporcional entre às concentrações encontradas e os valores de toxicidade. Para o maior valor de toxicidade encontrado, também corresponde a maior concentração de Zn encontrada (0,0995 mg/L). As concentrações de manganês, apresentaram valores superiores aos referendados na literatura, sendo o maior valor encontrado também para este período (0,1034 mg/L) e a amônia, apresentou seu maior valor de concentração: 3 mg/L. Com base nestes fatos e a correlação estabelecida através da análise de PCA, é razoável considerar

que as concentrações de metais e amônia e sua interação, influenciaram nos valores de toxicidade encontrados no teste com *E. lucunter*.

O conjunto de ações orientadas a gerenciar o risco de poluição em vias urbanas é conhecido como melhores práticas de gerenciamento (BMP, best management practices). O objetivo destas ações é controlar a poluição difusa através do conceito de *first flush*, ou seja, evitar que a maior carga de poluentes *runoff*, encontrada nas primeiras descargas de chuva, seja lançada nos corpos receptores (TOMAZ, 2007).

Por se tratar de poluição difusa, a contaminação do escoamento superficial torna-se também influenciável por fatores temporais como a sazonalidade. Portanto, o monitoramento da influência da sazonalidade sobre o escoamento superficial a cada ano torna-se uma proposição interessante partindo do ponto em que através da criação de dados históricos pode-se direcionar ações mais economicamente viáveis e eficazes para minimizar os impactos que poderão ser causados pelo escoamento nas vias durante estes períodos mais críticos. Após estes primeiros estudos pôde-se perceber que ações de controle para minimizar a contaminação do escoamento seriam mais viáveis economicamente. Aliás, nos países mais desenvolvidos ações de controle e comportamentais são mais buscadas que ações estruturais (TUCCI, 2005). A título de exemplo, a intensificação da varrição das vias mais movimentadas na estação seca contribuiria para eliminar boa parte de sedimentos depositados sobre elas que servem de veículos para transportes de contaminantes. A qualidade da água da rede pluviais depende de vários fatores, entre eles, a limpeza urbana e sua frequência (TUCCI, 1997). A varrição manual é menos eficiente. No exterior existem equipamentos apropriados que executam varrição sobre as vias com maior eficiência conforme ilustrado na figura 36.



Figura 36 – Varredora automática.

Fonte: DULEVO, 2017.

6. CONCLUSÃO

Os testes realizados com as espécies dulcícola e marinha com amostras coletadas durante a primeira descarga do *runoff* após longo período de estiagem apresentaram toxicidade aguda e crônica, corroborando com os estudos pretéritos. A zona portuária se mostrou mais tóxica e contaminada especialmente por amônia e os metais Br, Mn, Fe, Zn e Cu. Ações de controle para minimizar a contaminação do escoamento seriam mais recomendadas para a cidade de Santos, especialmente na zona portuária.

REFERÊNCIAS

- AMBROZEVICIAUS, A.P. **Poluição aquática em Santos (SP): uma abordagem interdisciplinar**. São Paulo: USP, 2010. Dissertação (mestrado) – Internunidades em ciência ambiental, Ciência ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010
- ANGRILL, S.; PETIT-BOIX, A.; MORALES-PINZÓN, T. et al. **Urban rainwater runoff quantity and quality e A potential endogenous resource in cities?** Journal of Environmental Management 189, 14 - 21, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 12713:** Ecotoxicologia aquática- Toxicidade Aguda- Método em ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 15350:** Ecotoxicologia aquática — Toxicidade crônica de curta duração — Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea). Rio de Janeiro, 2012.
- BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y.P.; RONCO, A. et al. **Ensaio Toxicológicos y Métodos de evaluación de calidad de aguas Estandarización, Intercalibración Resultados y Aplicaciones**. México: Gabriela Castillo Morales (ed.), 2004, 189p.
- BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. Tradução: Marco Tadeu Grassi et al. Porto Alegre: Bookman, 2011, 844p.
- BALL, J.E.; JENKS, R.D.; AUBOURG, D. **An assessment of the availability of pollutant constituents on road surfaces**. The Science of the Total Environment, 209, 243-254; 1998.
- BERTOLLETI, E. **Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo**. São Paulo: Cetesb, 2013, 42p.
- BIRGE, W.J.; BLACK, J.A.; WESTERMAN, A.G. **Short-term fish and amphibian tests for determining the effects of toxicant stress on early life stages and estimating chronic values for single compounds and complex effluents**. Environmental Toxicology and Chemistry, 49:807-821; 1985.
- BOHEMEN, H. D.V.; LAAK, W. H. J. V. **The Influence of Road Infrastructure and Traffic on Soil, Water, and Air Quality**. Environmental Management Vol. 31, No. 1, pp. 50–68, 2003.
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L. et al. **Introdução à engenharia ambiental**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.
- BRETANO, D. M.; **Ecotoxicologia aquática**. Disponível em <<https://www.slideshare.net/limnosufsc/ecotoxicologia-aquatica>> Acesso em 26 jun. 2017.

BRIX, K. V.; SCHLEKAT, C. E.; GARMAN, E. R. **The mechanisms of nickel toxicity in aquatic environments: an adverse outcome pathway analysis.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 36, No. 5, pp. 1128–1137, 2017.

BRUKER. **Ilustração do princípio de funcionamento de espectrômetro de fluorescência de raio X marca Bruker – modelo Picofox.** Disponível em < https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/X-rayDiffraction_ElementalAnalysis/TXRF/Brochures/bro_s2_picofox_en_rev_4_1_komplett_lores.pdf>. Acesso em: 15 de dez. 2017

CALTRANS. **A review of the contaminants and toxicity associated with particles in stormwater runoff.** Sacramento: Caltrans, 2003.

CLASSE INVERTIDA. **Mapa dos canais de Santos.** Disponível em <<http://classeinvertida.blogspot.com.br/2017/01/mapas-interessantes-santos-canais.html?m=0>>. Acesso em: 15 de ago. 2017.

CARRIÇO, J. M.; **O Plano de Saneamento de Saturnino de Brito para Santos: construção e crise da cidade moderna.** *Revista Risco*. Disponível em:<www.revistas.usp.br/risco/article/view/124537>. Acesso em 28 nov. 2017.

CEDERKVIST, K.; JENSEN, M. B.; HOLM, P.E. **Method for assessment of stormwater treatment facilities e Synthetic road runoff addition including micro-pollutants and tracer.** *Journal of Environmental Management* 198, 107e117, 2017.

CEMADEN. **Mapa interativo.** Disponível em <<http://www.cemaden.gov.br/mapainterativo/>>. Acesso em 10 de mai. 2017.

CESAR, A.; MARÍN, A.; MARÍN-GUIRAO, L et al. **Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portmán Bay.** *Scientia Marina*., 68 (Supl. 1): 205-213, 2004.

CESAR, A.; SILVA, S.R.; RAMOS, A. **Testes de Ecotoxicidade aquática no controle de poluição.** Santos: Universidade Santa Cecília, 1997.

CETESB **Manual de Produtos Químicos.** Disponível em <sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=BROMO&cod=BROMO>. Acesso em 12 set. 2017

CODESP. **Análise do movimento físico do Porto de Santos.** Disponível em <http://189.50.187.200/docpublico/amf_cpt/2016/amf-2016-12.pdf>. Acesso em 05 jun. 2017

CODESP. **Relatório de análise do movimento físico.** Disponível em <<http://www.portodesantos.com.br/estatisticas.php>>. Acesso em 05 jun. 2017.

COELHO, F. R. et al. Caracterização da qualidade das águas dos canais de Santos. São Paulo, n. 2, p. 54 – 59, 2012. Disponível em <<http://ojs.unisantia.br/index.php/bio/article/viewFile/70/27>>. Acesso em: 26 jan. 2017

CONAMA. Resolução, 2005. Resolução N°357 de 17 de março de 2005. DOU n° 053, de 18/03/2005, p. 58-63

CORDEIRO, M. F.; REZENDE, V. N. **Avaliação, monitoramento e remediação da qualidade da água das vias hídricas urbanas**. Santos: UNIFESP, 2017. 89 f. TCC (graduação) – Programa de graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2017.

COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R. et al. **A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação**. Química Nova, vol. 31, no.7, 2008

DAVIS, B.; BIRCH, G. **Comparison of heavy metal loads in stormwater runoff from major and minor urban roads using pollutant yield rating curves**. Environmental Pollution 158, 2541-2545, 2010

DELETIC, A. **The first flush load of urban surface runoff**. Water Research vol. 32, 8, 2462-2470, 1998

DULEVO. Street cleaning equipment. Disponível em <http://dulevo.com.au/street_cleaning_equipment.html>. Acesso em 7 ago. 2017.

DRAPPER, D; TOMLINSON, R.; WILLIAMS, P. **Pollutant concentrations in road runoff: southeast queensland case study**. Journal of Environmental Engineering, 126(4): 313-320, 2000.

FUNASA. **Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em etas**. Disponível em < http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manualcont_quali_agua_tecnicos_trab_emetas.pdf>. Disponível em 29 nov. 2017.

FURLEY, T.H. **Identificação da causa da toxicidade de efluentes de fabricas de celulose e papel da América Latina**. O papel, 34-42, 2009.

GOTVAJN, A. Z.; ZAGORC-KONCAN, J. **Bioremediation of highway stormwater runoff**. Desalination, 248,794–802, 2009.

HILLIGES, R.; SCHRIEWER, A.; HELMREICH, B. **A three-stage treatment system for highly polluted urban road runoff** Journal of Environmental Management, 128, 306 – 312, 2013.

IBGE. Disponível em <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/santos/panorama>>. Acesso em 05 jun. 2017.

HALLBERG, M.; RENMAM, G. **Removal of heavy metals from road runoff by filtration in granular slags columns**. 11th International Conference on Urban Drainage, Edinburgh, Scotland, UK, 2008

HUBER, W. C.; HEANEY, J. P.; STRECKER, E. W. et al. **Evaluation of Best**

Management Practices for Highway Runoff Control. National Cooperative Highway Research Program, Transportation Research Board, National Research Council, 2006.

KAYHANIAN, M.; SINGH, A.; SUVERKROPP, C. et al. **Impact of Annual Average Daily Traffic on Highway Runoff Pollutant Concentrations.** Journal of Environmental Engineering., 129(11), 975-990, 2003.

KAYHANIAN, M.; STRANSKYB, C.; BAYC, S. et al. **Toxicity of urban highway runoff with respect to storm duration.** Science of Total Environment, 389,386-406, 2007.

KLIMASZEWSKA, K.; POLKOWSKA, Z.; NAMIESNIK, J. **Influence of Mobile Sources on Pollution of Runoff Waters from Roads with High Traffic Intensity.** Polish Journal of Environment, Vol. 16, No. 6, 889-897, 2007.

KOUKAL, B., DOMINIK, J., VIGNATI, et al. **Assessment of water quality and toxicity of polluted Rivers Fez and Sebou in the region of Fez (Morocco).** Environmental Pollution, 131, 163–172, 2004.

KOJIMA, K.; MURAMAKI, M.; YOSHIMIZU, C. et al. **Evaluation of surface runoff and road dust as sources of nitrogen using nitrate isotopic composition.** Chemosphere, 84, 1716–1722, 2011.

LEE, H.; LAU, SL.; KAYHANIAN, M. et al. **Seasonal first phenomenon of urban stormwater discharges.** Water Research 38, 4153-4163, 2004.

LIU, Y. R.; LI, J.; HE, J. Z. et al. **Different influences of field aging on nickel toxicity to *Folsomia candida* in two types of soil.** Environmental Science and Pollution Research, 22, 8235–8241, 2015.

MARTINS, R. S. L.; ABESSA, D. M. S.; FORNARO, A. et al. **Rainwater toxicity and contamination study from São Paulo Metropolitan Region.** Environmental Monitoring and Assessment 186:1183-1194,2104.

MÁXIMO, M. V.; MOTTOLA, L. S. M.; RESGALLA, C. JR. **Sensibilidade do Ouriço *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea) em Testes de Toxicidade.** Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology., v. 3, n. 1, 47-52, 2008.

MUNZINGER, A. **Effects of nickel on *daphnia magna* during chronic exposure and alterations in the toxicity to generations pre-exposed to nickel.** Water Research, vol. 24, n. 7, 845-852, 1990.

MENEZES, P. F.; BERZIN, G.; TORRES, J. P. **Aplicação de oxigênio do sistema de esgoto de Santos e São Vicente para combate de odores.** Revista DAE 45:143, 371-379, 1985.

NEWMAN, M.C. **Fundamentals of Ecotoxicology.** Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2010, 541p.

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development. **Daphnia magna Reproduction Test. Guidelines for the testing of chemicals.** No 211. Adopted 21st September 1998.

OLIVEIRA, C. J.; SANTOS, M. A. dos; **Os Canais de Saturnino: documentário conta história de um projeto pioneiro.** Revista Risco. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/risco/article/download/124552/121067>>. Acesso em 28 nov. 2017.

PALMA, P; ALVARENGA, PALMA, V. L. et al. **Assessment of anthropogenic sources of water pollution using multivariate statistical techniques: a case study of the Alqueva's reservoir, Portugal.** Environment monitoring and assessment. Vol. 165, issue 1-4, 539 – 552, 2009.

PANE, E. F.; MCGEER, J. C.; WOOD, C. M. **Effects of chronic waterborne nickel exposure on two successive generations of *Daphnia magna*.** Environmental toxicology and chemistry. Vol. 23, issue 4, 1051 – 1056, 2004

PEREIRA, E; BAPTISTA-NETO, J. A.; SMITH, B. J. et al. **The contribution of heavy metal pollution derived from highway runoff to Guanabara Bay sediments – Rio de Janeiro / Brasil.** Anais da Academia Brasileira de Ciências 79(4):739-750, 2007.

PEREIRA JÚNIOR, J.A. **Estudo da acumulação e caracterização de sedimentos em sarjetas de vias urbanas.** Poços de Caldas: UNIFAL, 2014. 121 f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2014.

PETRUCCI, G., GROMAIRE, M.C., SHORSHANI, et al. 2014. **Nonpoint source pollution of urban stormwater runoff: a methodology for source analysis.** Environmental Science and Pollution Research, 21 (17), 10225–10242, 2014.

PIEDRAS, S.R.N.; OLIVEIRA, J. L. R.; MORAES, P. R. R. et al. **Toxicidade aguda da amônia não ionizada e do Nitrito em Alevinos de *Cichlasoma facetum* (JENYNS, 1842).** Ciências Agrotécnicas. v. 30, n. 5, p. 1008-1012, 2006.

PLAA, G.L. **Present status: toxic substances in the environment.** Canadian Journal Physiol. Pharmacol. 1982; 60:1010-1016

PRESTES, E.; ANJOS, V. E. dos.; SODRÉ, F. F. et al. **Copper, lead and cadmium loads and behavior in urban stormwater runoff in Curitiba, Brazil.** Journal of the Chemical Brazilian society. vol. 17 nº1, 2006.

PROVINELLI, J.; NETO, C. O. de A.; PINTO, D. L. et al. **Manejo de águas pluviais urbanas**. Rio de Janeiro: Abes, 2009, 396p.

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

RAMOS, D.P. **Canais de Santos: Trajetória do tombamento de uma identidade urbana**. São Carlos: UFSCAR, 2004.217p. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Urbana, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

RUDEL, D., DOUGLAS, C. D.; HUFFNAGLE, I. M. et al. **Assaying Environmental Nickel Toxicity Using Model Nematodes**. Plos one, Vol. 8, issue 10, e77079, 2013.

SABESP. **Emissário submarino completa 35 anos**. Disponível em <<http://site.sabesp.com.br/site/imprensa/noticiasdetalhe.aspx?secaold=65&id=5508>> . Acesso em 03 Jun 2017.

SANTOS. Lei complementar nº 730, de 11 de julho de 2011 e suas alterações: Lei complementar nº 813, de 29 de novembro de 2013, Lei complementar nº 953, de 30 de dezembro de 2016.

SARASWAT, C., KUMAR, P.; MISHRA, B. K. **Assessment of stormwater runoff management practices and governance under climate change and urbanization: An analysis of Bangkok, Hanoi and Tokyo**. Environmental Science & Policy 64, 101–117, 2016.

SARDA, N.; BURTON Jr., G.A. **Ammonia variation in sediments: spatial, temporal and method-related effects**. Environmental Contamination and Toxicology, 14: 1499-1506, 1995.

SARTOR, J.D.; BOYD, G.B. **Water pollution aspects of street surface contaminants**. Washington D.C.: Office of Research and Monitoring U.S. environmental protection agency, 1972.

SHIMADZU. Disponível em <http://www.shimadzu.com.br/analitica/produtos/elemental/raios_x/eds/edx7000_8000-1.shtml>. Acesso em 6 set. 2017.

SOLLARS, C.J.; PETERS C.J.; PERRY, R. **Bromide in urban runoff —water quality considerations**. Effects of Waste Disposal on Groundwater and Surface Water (Proceedings of the Exeter Symposium). IAHS Publ. no. 139, 1982

SPENCER, A. M.; COLLONA, G. R.; **NFPA Pocket guide to hazardous materials**. Quincy: National Fire Protection Association, Inc., 2003, 221p.

TABACHNICK, B.G.&FIDELL, L.S. **Using multivariate statistics**. 3 ed. Harper Collins, 1996.

TOMAZ, P. **BMPs Best Management Practices (melhoria da qualidade das águas pluviais)**. Livro eletrônico. Edição Plínio Tomaz., 2007, 185p.

TRUHAUT, R. **Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives**. Ecotoxicology and Environment Safety, 1977;1:151-173

TUCCI, C.E.M. **Água no meio urbano**. Disponível em <http://www.pec.poli.br/sistema/material_disciplina/fotos/águanomeio%20urbano.pdf>. Acesso em 13 nov 2017.

TUCCI, C.E.M. **Gestão das inundações urbanas**. Porto Alegre: Global Water Partnership South America/ Unesco, 2005, 200p.

WALKER, C.H.; SIBLY, R. M.; HOPKIN, S. P et al. **Principles of ecotoxicology**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2012, 360p.

WARA, S; FARM, C. **An assessment of the potential toxicity of runoff from a urban roadscape during rain events**. Environ Sci Res Int. 2008; 15(3):205-10

WATANABE, H.; NAKAJIMA, F.; KASUGA, I. et al. **Toxicity evaluation of road dust in the runoff process using a benthic ostracod *Heterocypris incongruens***. Science of the Total Environment, 409,2366–2372, 2011.

WINID, B. **Bromine and water quality e Selected aspects and future perspectives**. Applied Geochemistry, 63, 413 – 435, 2015.

WU, L.L.; JIANG, Y.; ZHANG, L.L. et al. **Toxicity of urban highway runoff in Shanghai to zebrafish (*Danio rerio*) embryos and luminous bacteria (*Vibrio qinghaiensis*. Q67)**. Environmental Science Pollution Research, 21 (4), 2663–2676, 2014.

XIAO, Y.; ZHANG, T-T.; LIANG, D. et al. **Experimental study of water and dissolved pollutant runoffs on impervious surfaces**. Journal of Hydrodynamics, 28(1):162-165, 2016.

YANG, Y.-Y.; TOOR, G.S. **Sources and mechanisms of nitrate and orthophosphate transport in urban stormwater runoff from residential catchments**. Water Research, 112, 176 – 184, 2017.

YANG, Y.-Y., TOOR, G.S. **$\delta^{15}\text{N}$ and ^{18}O Reveal the sources of nitrate-nitrogen in urban residential stormwater runoff**. Environmental Science & Technology, 50 (6), 2881e 2889, 2016.

ZAGATTO, P.A; BERTOLETTI. E. **Ecotoxicologia aquática Princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006, 478p.