

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DE METAIS EM ÁGUA, SEDIMENTO E
ORGANISMOS AQUÁTICOS DE RIOS E RESERVATÓRIOS PERTENCENTES À
REDE DE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DO ESTADO
DE SÃO PAULO, BRASIL.**

WÁLACE ÂNDERSON ALMEIDA SOARES

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

**Orientadora: Profa. Dra. Déborah
Inês Teixeira Favaro**

SÃO PAULO

2012

Dedico este trabalho aos meus pais, Waldir e Nilse, que mesmo diante de todas as dificuldades, nunca mediram esforços para que nós, seus filhos, pudéssemos ser felizes e alcançarmos nossos sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, Senhor e Mestre de minha vida.

À minha família, meus pais Waldir e Nilse e meus irmãos Wélisson e Fabíola por terem me ajudado, mesmo sem saber, a me transformar em quem sou.

À minha esposa Renata, pelo amor, incentivo, apoio nos momentos difíceis, além de toda a paciência necessária nesse período tão conturbado.

À Dra. Déborah Inês Teixeira Fávaro, pela orientação, incentivo, colaboração, ensinamentos, muita paciência e grandiosa ajuda na realização deste trabalho.

Ao meu gerente e amigo, Dr. Gilson Alves Quinágua, por tornar possível a execução deste trabalho, pela grande ajuda, pelas brigas, pelo apoio e por nunca ter deixado de acreditar em mim.

Às Dras. Maria Inês Zanoli Sato e Rúbia Kuno, pelo voto de confiança e por tornar possível a execução deste trabalho.

À minha eterna “chefe” Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro, por tudo o que ela significa para mim, por todos os ensinamentos, por todas as “aulas” rabiscadas nos vidros do laboratório e por ter ajudado a aumentar em mim o gosto pela ciência.

À Dra. Marta Condé Lamparelli, pela ideia inicial do projeto e pelas contribuições na conclusão deste trabalho.

À equipe do Setor de Comunidades Aquáticas da CETESB, em especial à Dra. Mônica Luisa Kuhlmann, por ter ajudado a dar o direcionamento correto ao trabalho, à Lucy Lina Ogura e ao Emerson Alves de Araújo, por toda ajuda dada e por sempre estarem dispostos a ajudar.

Aos amigos do Setor de Análises Toxicológicas da CETESB, Ângela Maria Cafruni, Carlos Alberto Coimbra, MsC. Daniela Dayrell França, Francisco José Viana de

Castro, Genival de Oliveira e Ivo Freitas de Oliveira, pelo companheirismo e sem os quais a realização deste trabalho não seria possível.

Aos amigos e grandes profissionais do Setor de Amostragem da CETESB, Carlos Jesus Brandão, Osvaldo Atanagildo da Silva (Gordela) e Elimar de Jesus Melo por toda ajuda prestada.

Aos também amigos e grandes profissionais do Setor de Química Inorgânica da CETESB, Adalberto Aparecido Diniz, Valter Roberto Diniz, MsC. Francisco Jorge Ferreira, Patrícia Akemi Koga e MsC. Robson Leocádio Franklin, pela grandiosa ajuda, apoio, paciência e colaboração em todas as etapas deste trabalho.

De forma muito especial, à minha amiga e colega de CETESB e mestrado, Sharlley Alves Silva, pelo companheirismo e toda ajuda tanto na execução do trabalho como nas disciplinas do IPEN. Muito obrigado mesmo.

Ao meu grande amigo Dr. Fábio Kummrow que muito me inspirou e contribuiu em minha vida profissional.

A todos os estagiários que passaram pela CETESB e muito me ajudaram no desenvolvimento do meu trabalho, no meu crescimento pessoal e profissional e pela amizade que permanece ano após ano.

E a todos os amigos que, direta ou indiretamente, ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

“Como é grande aquele que encontrou sabedoria e ciência! Mas nada é tão grande como aquele que teme ao Senhor. Em Deus se encontram a sabedoria, o conhecimento e a ciência [...]” Eclesiástico 25, 13; 11, 15a.

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DE METAIS EM ÁGUA, SEDIMENTO E ORGANISMOS AQUÁTICOS DE RIOS E RESERVATÓRIOS PERTENCENTES À REDE DE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo dos níveis de concentração e da distribuição das espécies metálicas Arsênio, Cádmio, Crômio, Cobre, Níquel e Chumbo em água, sedimento e nos organismos bentônicos dos rios e reservatórios pertencentes à Rede de Monitoramento de água e sedimento da CETESB, utilizando as técnicas analíticas de espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de emissão ótica (ICP OES). Paralelamente, avaliou-se a toxicidade da água e do sedimento para a bactéria *Vibrio fischeri* e a comunidade bentônica local. A caracterização multielementar (concentração total) dos sedimentos pela técnica de análise por ativação neutrônica (NAA) também foi realizada. Todas as metodologias analíticas foram avaliadas quanto à precisão, exatidão e os limites de detecção e quantificação foram calculados. Nas amostras de água, foram obtidas concentrações dos metais analisados inferiores aos limites estipulados pela Resolução 357/2005 do CONAMA para corpos de água classe 2. Os elementos estudados foram determinados, muitas vezes em concentrações que podem causar efeitos adversos à biota aquática, nas amostras de sedimento de dez dos treze pontos estudados, o que sugere que estes elementos tendem a se depositar nos sedimentos. Obtiveram-se concentrações dos elementos Cd, Cu, Pb e Ni em muitas das amostras de invertebrados bentônicos estudados, demonstrando que estes elementos podem ser absorvidos e bioacumulados nos organismos expostos aos sedimentos contaminados. A correlação entre as concentrações dos elementos no sedimento e nos organismos foi significativa e positiva. As correlações entre as concentrações dos elementos detectados e a massa dos organismos também foram

significativas, porém negativas, ou seja, quanto menor a massa, maiores concentrações são esperadas. Não foi detectada toxicidade aguda nas amostras de água para o *Vibrio fischeri*, porém foi detectada na água intersticial de oito das treze amostras de sedimento testadas. Quanto à avaliação da comunidade bentônica, um ponto foi classificado como qualidade **Ruim**, oito como **Regular** e quatro como **Boa**, segundo critério adotado pela CETESB. Os resultados obtidos na análise de sedimentos por análise por ativação neutrônica demonstraram existir valores mais enriquecidos para os elementos As, Br, Cr, Hf, Ta, Th , U e Zn e os elementos terras raras (ETR) Ce, Eu, La, Nd, Sm, Tb e Yb em muitas das amostras analisadas indicando que pode estar havendo contribuição antrópica para esses elementos.

METAL DISTRIBUTION EVALUATION IN WATER, SEDIMENT AND AQUATIC ORGANISMS IN RIVERS AND RESERVOIRS OF A SEDIMENT QUALITY MONITORING NETWORK OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL

ABSTRACT

The present study analyzed concentration levels and distribution of As, Cd, Cr, Cu, Ni and Pb metallic species in water, sediment and aquatic organisms in rivers and reservoirs of a water and sediment quality monitoring network belonging to CETESB. For this purpose two analytical techniques Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF AAS) and Optical Emission Spectrometry with Inductively Coupled Plasma (ICP OES) were used. Water and sediment toxicity for *Vibrio fischeri* bacteria and the local benthic community were also evaluated. The multielemental characterization of sediments was undertaken by neutron activation analysis technique (NAA). All the analytical methodologies were evaluated for precision and accuracy, and detection and quantification limits calculated. In water samples metal concentrations were below the CONAMA 357/2005 resolution limits for class 2 water bodies. For sediment samples metal concentration levels that can cause adverse effects on aquatic biota were found in 10 of the 13 collection points studied. Metals Cd, Cu, Pb and Ni were detected in many invertebrate benthic organisms samples studied, indicating that these elements can be absorbed and bioaccumulated by these organisms when exposed to contaminated sediments. Significant correlations were found for metal concentrations in sediments and organisms. Negative correlations between detected element concentrations and weight of the sampled organisms were significant, so that the lower the weight the higher metal concentrations were measured. Acute toxicity for *Vibrio fischeri* was not observed for the water samples, but was detected in 8 of the 13 sediment interstitial water samples tested. As for the benthic community evaluation, one of the 13 points was rated as BAD quality, 8 rated as REGULAR and 4 as GOOD, using CETESB's classification. The results for sediment samples by NAA showed higher enrichment

values for As, Br, Cr, Hf, Ta, Th , U e Zn and rare earth elements (REE) Ce, Eu, La, Nd, Sm, Tb and Yb in many of the tested sediment samples indicating that there may be and anthropic contribution for these elements.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1.1 – Classificação granulométrica dos sedimentos.....	30
Tabela 1.2 – Valores orientadores do CCME para arsênio e metais pesados para água doce.....	32
Tabela 3.1 Descrição dos pontos de amostragem, localização e data de coleta.....	71
Tabela 3.2 – Concentração das soluções controle para verificação da curva de calibração – ICP OES.....	87
Tabela 3.3 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de água pela técnica de ICP OES.....	90
Tabela 3.4 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de sedimento pela técnica de ICP OES.....	91
Tabela 3.5 – Concentração das soluções controle para verificação da curva de calibração – GF AAS.....	93
Tabela 3.6 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de água pela técnica de GF AAS.....	94
Tabela 3.7 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de sedimento pela técnica de GF AAS.....	94
Tabela 3.8 – Limites de quantificação (LQ) para amostras de invertebrados bentônicos pela técnica de GF AAS.....	98
Tabela 3.9 - Valores de LD e LQ para os materiais de referência SL-1 e BEM	102
Tabela 4.1 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por GF AAS em amostras de água	110

Tabela 4.2 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por GF AAS em amostras de sedimento.....	111
Tabela 4.3 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por ICP OES em amostras de água	111
Tabela 4.4 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por ICP OES em amostras de sedimento.....	112
Tabela 4.5 – Média dos resultados, desvio padrão, recuperação analítica e erro relativo das amostras fortificadas de água por GF AAS.....	113
Tabela 4.6 – Média dos resultados, desvio padrão, recuperação analítica e erro relativo das amostras fortificadas de água por ICP OES.....	113
Tabela 4.7 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo dos MRCs para sedimento por GF AAS.....	114
Tabela 4.8 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo dos MRCs para sedimento por ICP OES.....	115
Tabela 4.9 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo para a determinação de Cd, Cu, Ni e Pb nos MRCs em organismos bentônicos por GF AAS.....	116
Tabela 4.10 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo para a determinação de As e Cr nos MRCs em organismos bentônicos por GF AAS	117
Tabela 4.11 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC Soil-5 e Z-score calculado para cada elemento.....	119
Tabela 4.12 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC SL-1 e Z-score calculado para cada elemento.....	120

Tabela 4.13 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC BEN-Basalt e Z-score calculado para cada elemento.....	121
Tabela 4.14 – Resultados das análises granulométricas dos sedimentos.....	122
Tabela 4.15 – Concentrações de metais nas amostras de água por ICP OES e GF AAS (mg L ⁻¹).....	123
Tabela 4.16 – Concentrações de metais nas amostras de sedimento por ICP OES e GF AAS (mg kg ⁻¹).....	125
Tabela 4.17 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto LENS3900 (µg g ⁻¹).....	128
Tabela 4.18 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto PARD2590 (µg g ⁻¹).....	128
Tabela 4.19 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto PRET2600 (µg g ⁻¹).....	129
Tabela 4.20 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto RIJU2800 (µg g ⁻¹).....	130
Tabela 4.21 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto SAGU2150 (µg g ⁻¹).....	131
Tabela 4.22 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto TBIR3400 (µg g ⁻¹).....	133
Tabela 4.23 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto ATSG2800 (µg g ⁻¹).....	134
Tabela 4.24 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto MOCA2300 (µg g ⁻¹).....	135
Tabela 4.25 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto RGDE2900 (µg g ⁻¹).....	136

Tabela 4.26 – Determinações por NAA nos sedimentos (mg kg ⁻¹): média, desvio padrão, valores do NASC, TEL e PEL.....	139
Tabela 4.27 – Fator de enriquecimento (FE) para as amostras de sedimento	141
Tabela 4.28 – Resultados do teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i> nas amostras de água e sedimento, em CE20 (%)......	142
Tabela 4.29 – Classificação do teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	143
Tabela 4.30 – Avaliação da comunidade bentônica nas amostras de sedimento.....	145
Tabela 4.31 – Estatísticas descritivas de metais nos organismos segundo a área amostrada.....	148
Tabela 4.32 – Resultados do Teste Multivariado do MLG.....	149
Tabela 4.33 – Resultado dos testes univariados para as concentrações de metais nos organismos.....	150
Tabela 4.34 – Resultados dos Testes de Comparação Múltiplas (Bonferroni) para as espécies.....	151
Tabela 4.35 – Resultados dos Testes de Comparação Múltiplas (Bonferroni) para os locais (pontos de amostragem).....	152
Tabela 4.36 – Médias das concentrações de metais segundo a área e tipo de organismo – ranking da bioacumulação.....	153
Tabela 4.37 – Estatísticas descritivas para os Cluster obtidos.....	154
Tabela 4.38 – Distribuição dos casos segundo o local e cluster que foi alocado.....	155
Tabela 4.39 – Correlação de Pearson entre a massa dos organismos e os metais e entre organismos.....	158

Tabela 4.40 – Resultado da Análise Fatorial utilizando Rotação Varimax com valores /0,6/ selecionados.....	162
Tabela 4.41 – Resultado da Análise Fatorial com extração de Componentes Principais.....	163

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 – Classificação das UGRHIs por vocação.....	26
Figura 2.1 – Modelo de ICP OES.....	59
Figura 2.2 – Tocha de plasma.....	60
Figura 2.3 – Modelo de GF AAS.....	61
Figura 2.4 – (A) Esquema de um GF AAS; (B) Tubo de grafite.....	62
Figura 2.5 – Representação esquemática da interação do nêutron com um núcleo.....	63
Figura 2.6 – Sistema analisador de toxicidade e cubeta de vidro.....	67
Figura 2.7 – Esquema do teste.....	68
Figura 2.8 – Exemplos de organismos bentônicos.....	69
Figura 3.1 – Rio Lençóis (LENS3900 - UGRHI 13).....	72
Figura 3.2 – Rio Pardo (PARD2590 - UGRHI 4).....	72
Figura 3.3 – Rio Preto (PRET2600 - UGRHI 15).....	73
Figura 3.4 – Rio Ribeira (RIBE2650 - UGRHI 11).....	73
Figura 3.5 – Rio Juqueriquerê (RIJU2800 - UGRHI 3).....	74
Figura 3.6 – Rio Sapucaí-Guaçú (SAGU2150 - UGRHI 1).....	74
Figura 3.7 – Rio São José dos Dourados (SJDO2150 - UGRHI 18).....	75
Figura 3.8 – Rio Tibiriçá (TBIR3400 - UGRHI 20).....	75

Figura 3.9 – Reservatórios Salto Grande (ATSG2800) e Jaguari (JAR10800 - UGRHI 5).....	76
Figura 3.10 – Reservatórios Billings (BILL2100) e Rio Grande (RGDE2900 - UGRHI 6).....	76
Figura 3.11 – Reservatório Cachoeira de Cima (MOCA2300 - UGRHI 9).....	77
Figura 3.12 – Coleta de amostra de água (CETESB, 2011).....	78
Figura 3.13 – Coleta de amostra de sedimento.....	78
Figura 3.14 – Amostra de bentos.....	79
Figura 3.15 – Preparo de amostra de sedimento.....	81
Figura 3.16 – Aquecimento em chapa elétrica.....	82
Figura 3.17 – Digestor por micro-ondas.....	83
Figura 4.1 – Gráficos de Z-score obtidos nas análises dos MRCs por INAA.....	118
Figura 4.2 – Diagramas BoxPlot para as concentrações de metais nos organismos: dados originais e transformados.....	146
Figura 4.3 – Comportamento das médias dos metais nos cluster refletindo a bioacumulação.....	155
Figura 4.4 – Diagramas BoxPlot para as concentrações de metais nos organismos por local.....	157
Figura 4.5 – Diagramas BoxPlot para a massa dos organismos segundo o local.....	157
Figura 4.6 – Concentrações de metais nos organismos (esquerda) e nos sedimentos (direita) por local.....	159

Figura 4.7 – Resultado da Correlação Canônica entre os metais nos organismos e no sedimento.....	160
Figura 4.8 – Análise de Fatores, Fator 1 x Fator 2.....	161
Figura 4.9 –0 Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento, variáveis: pontos de amostragem.....	164
Figura 4.10 – Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento, variáveis: elementos e granulometria.....	165

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	24
1 INTRODUÇÃO.....	24
1.1 Sedimentos.....	28
1.2 Metais.....	34
1.2.1 Arsênio.....	36
1.2.2 Cádmio.....	37
1.2.3 Chumbo.....	39
1.2.4 Cobre.....	40
1.2.5 Crômio.....	42
1.2.6 Níquel.....	43
1.3 Metais em sedimentos.....	44
1.4 Avaliação ecotoxicológica de água e sedimentos.....	47
1.4.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	50
1.5 Avaliação da comunidade bentônica.....	52
1.6 Metais em organismos.....	53
1.7 Revisão bibliográfica.....	54
1.8 Objetivos.....	56
1.8.1 Objetivos específicos.....	57

CAPÍTULO 2 – TÉCNICAS ANALÍTICAS	58
2.1 Determinação de metais.....	58
2.1.1 Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).....	58
2.1.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS)	60
2.2 Caracterização multielementar dos sedimentos – técnica de INAA.....	62
2.2.1 Análise Instrumental por Ativação Neutrônica (INAA).....	62
2.2.1.1. Tendências atuais da NAA.....	65
2.3 Testes de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i> em água e sedimento.....	66
2.4 Avaliação da comunidade bentônica.....	68
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS	70
3.1 Definição dos pontos de amostragem.....	70
3.2 Coleta das amostras.....	77
3.2.1 Coleta de amostras de água para metais e <i>Vibrio fischeri</i>	77
3.2.2 Coleta de amostras de sedimento para metais e <i>Vibrio fischeri</i>	78
3.2.3 Coleta de amostras de sedimento para avaliação da comunidade bentônica.....	79
3.2.4 Coleta de amostras de organismos bentônicos para determinação de metais.....	79
3.3 Preparação das amostras.....	80

3.3.1 Preparo de amostras de sedimento para determinação de metais e caracterização multielementar.....	80
3.3.2 Digestão de amostras de água e sedimentos assistida por micro-ondas	81
3.3.3 Preparo de amostras de sedimento para o teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	84
3.3.4 Preparo das amostras de invertebrados bentônicos para determinação de metais por GF AAS.....	84
3.4 Determinação de metais em água, sedimento e organismos.....	85
3.4.1 Validação das metodologias utilizadas.....	85
3.4.2 Determinação de metais em águas e sedimentos por ICP OES.....	85
3.4.2.1 Validação da metodologia.....	86
3.4.2.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método.....	89
3.4.3 Determinação de metais em águas e sedimentos por GF AAS.....	91
3.4.3.1 Validação da metodologia.....	93
3.4.3.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método.....	94
3.4.4 Determinação de metais em invertebrados bentônicos por GF AAS.....	94
3.4.4.1 Validação da metodologia.....	97
3.4.4.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método.....	97
3.4.5 Análise instrumental por ativação neutrônica (INAA).....	98
3.4.5.1 Preparação dos padrões sintéticos.....	98
3.4.5.2 Irradiação e contagem.....	99
3.4.5.3 Validação da metodologia.....	100

3.4.5.4 Aceitação dos resultados de INAA.....	100
3.4.5.5 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).....	101
3.4.5.6 Fator de Enriquecimento (FE).....	102
3.4.5.7 Tratamento estatístico dos dados – análise estatística multivariada.....	103
3.5 Análises granulométricas.....	105
3.6 Avaliação ecotoxicológica de água e sedimentos.....	106
3.6.1 Testes de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	106
3.6.1.1 Validação da metodologia.....	107
3.7 Avaliação da comunidade bentônica.....	107
3.7.1 Controle de qualidade.....	107
3.8 Tratamento estatístico dos dados – análise estatística multivariada.....	108
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	109
4.1 Validação das metodologias de GF AAS e ICP OES.....	109
4.1.1 Análises de brancos.....	109
4.1.2 Linearidade analítica.....	109
4.1.3 Verificação das curvas analíticas.....	110
4.1.4 Amostras fortificadas.....	112
4.1.5 Materiais de Referência Certificados.....	113
4.1.5.1 Determinação de metais em sedimento por GF AAS.....	114
4.1.5.2 Determinação de metais em sedimento por ICP OES.....	115

4.1.5.3 Determinação de metais em organismos bentônicos por GF AAS.....	116
4.1.6 Testes de Toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	118
4.1.7 Análise instrumental por ativação neutrônica (INAA).....	118
4.2 Análise granulométrica dos sedimentos.....	121
4.3 Determinação de elementos metálicos por GF AAS e ICP OES.....	122
4.3.1 Determinação de elementos metálicos em amostras de água.....	123
4.3.2 Determinação de elementos metálicos em amostras de sedimento.....	124
4.3.3 Determinação de elementos metálicos em amostras de invertebrados bentônicos.....	127
4.4 Caracterização multielementar de sedimentos por Análise por Ativação Neutrônica (NAA).....	137
4.5 Teste de toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i>	141
4.6 Avaliação da comunidade bentônica dos sedimentos.....	144
4.7 Tratamento estatístico dos dados de concentração de metais – análise estatística multivariada.....	146
4.7.1 Avaliação da correlação entre a concentração dos elementos nos organismos e nos sedimentos.....	158
4.8 Tratamento estatístico dos dados obtidos para NAA – análise estatística multivariada.....	160
4.8.1 Análise Fatorial.....	161
4.8.1 Análise de Agrupamentos.....	163
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES.....	166

5.1 Recomendações.....	170
CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	172

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, desenvolvida pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), foi criada em 1974, em atendimento à Lei Estadual Nº 118, promulgada em 29/06/73. Segundo a CETESB (2012), os principais objetivos da rede de monitoramento são:

- a) realizar um diagnóstico da qualidade das águas superficiais do estado, avaliando sua conformidade com a legislação ambiental;
- b) avaliar a evolução temporal da qualidade das águas superficiais do estado;
- c) identificar áreas prioritárias para o controle da poluição das águas, como trechos de rios e estuários onde a qualidade de água possa estar mais degradada, possibilitando ações preventivas e corretivas da CETESB e de outros órgãos;
- d) subsidiar o diagnóstico e controle da qualidade das águas doces utilizadas para o abastecimento público, verificando se suas características são compatíveis com o tratamento existente, bem como para os múltiplos usos;
- e) dar subsídio técnico para a execução dos Planos de Bacia e Relatórios de Situação dos Recursos Hídricos, para a cobrança do uso da água e para o estudo do enquadramento dos corpos hídricos;

- f) fornecer subsídios para a implementação da Política Nacional de Saneamento Básico (Lei 11.445/2007).

A crescente expansão demográfica e industrial observada nas últimas décadas trouxe como consequência o comprometimento das águas dos rios, lagos e reservatórios. A poluição das águas é gerada principalmente por (CETESB, 2006 apud BOSTELMANN, 2006):

- a) efluentes domésticos (poluentes orgânicos biodegradáveis, nutrientes e bactérias);
- b) efluentes industriais (poluentes orgânicos e inorgânicos, dependendo da atividade industrial);
- c) carga difusa urbana e agrícola: poluentes advindos da drenagem destas áreas – fertilizantes, defensivos agrícolas, fezes de animais e material em suspensão, material advindo de aterros sanitários (material particulado e lixiviado).

Para avaliar a qualidade e controlar a poluição das águas dos rios e reservatórios em sua Rede de Monitoramento a CETESB utiliza padrões de qualidade, que definem os limites de concentração de cada substância presente na água, definidos pela Resolução número 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Esta Resolução estabelece as classes de água doce, salobra e salina de acordo com seus usos preponderantes e define os respectivos padrões de qualidade para cada classe. Os usos múltiplos dos corpos d'água referem-se a uma gama de atividades humanas, como por exemplo, abastecimento público e industrial, irrigação, produção de energia elétrica, lazer e preservação da vida aquática (BOSTELMANN, 2006; CETESB, 2012).

Com o objetivo de complementar o diagnóstico de qualidade de ecossistemas aquáticos, a avaliação da qualidade do sedimento tem sido cada vez mais utilizada nestes estudos, por retratar condições históricas da influência de atividades antrópicas sobre esses ambientes, nem sempre detectáveis em análises realizadas somente na água. A interação entre o sedimento e a coluna d'água pode ser fonte

de contaminação de um ambiente aquático. Desta forma, em 2002 a avaliação do sedimento foi incorporada à Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo (CETESB, 2009, 2012).

A Lei Estadual nº 9.034 de 1994 – Plano Estadual de Recursos Hídricos propôs a divisão do estado de São Paulo em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI), classificando-as por vocações em quatro grandes grupos: Agropecuária, Conservação, em Industrialização e Industrial. Na Figura 1.1 estão apresentadas as 22 UGRHIs e a classificação das mesmas por vocação.

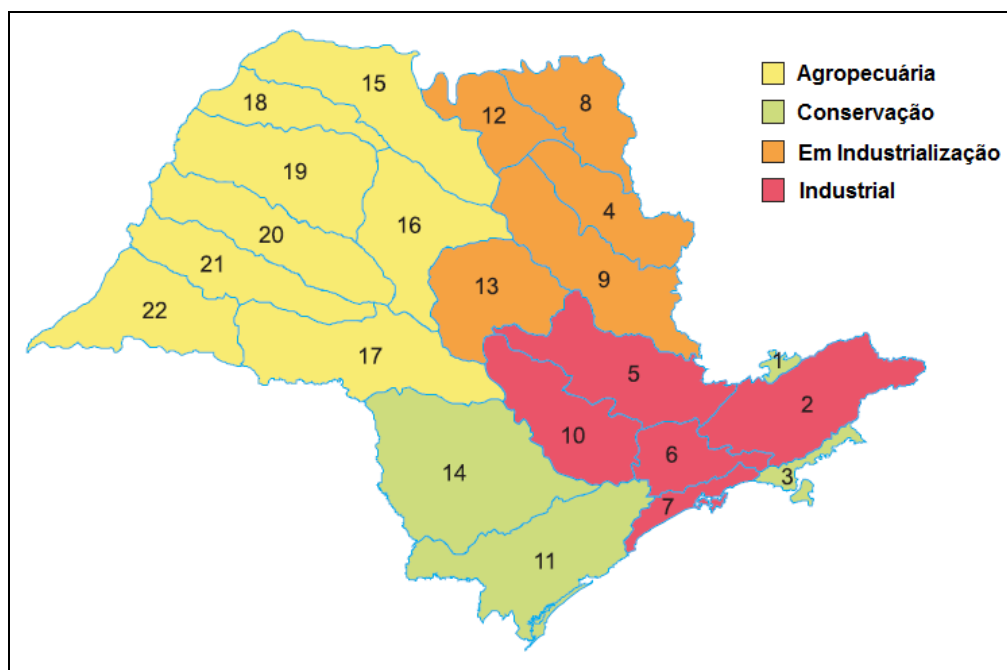


Figura 1.1 – Classificação das UGRHIs por vocação (CETESB, 2012)

A CETESB, por meio de sua Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo realiza, sistematicamente, a avaliação da qualidade da água e sedimento dos corpos hídricos superficiais do estado. Em 1974, no início da operação da rede, ela possuía 47 pontos de amostragem de água. Desde então, vem ocorrendo sucessivos aumentos nessa malha de pontos, com o objetivo de ampliar sua representatividade nas bacias hidrográficas do

estado. Em 2011 a Rede de Monitoramento operou, nas 22 UGRHIs, com 420 pontos de amostragem, sendo 24 pertencentes à Rede de Sedimento, estes últimos distribuídos em 13 UGRHIs em rios e reservatórios do estado. Com o objetivo de manter pontos de monitoramento de sedimento em UGRHIs pertencentes às quatro vocações, 14 pontos concentraram-se em UGRHIs com vocação industrial, 4 em UGRHIs com vocação agropecuária, 3 em UGRHIs em industrialização e 3 em UGRHIs de conservação (CETESB, 2012).

A grande quantidade e as diferentes formas de aporte de poluentes que podem estar presentes nas águas superficiais tornam inexecutável a análise sistemática de todas as substâncias presentes. Por esse motivo, a CETESB faz a determinação de cerca de 50 variáveis de qualidade de água e 63 variáveis de qualidade de sedimento (físicas, químicas, hidrobiológicas, microbiológicas e ecotoxicológicas) consideradas mais representativas para esse fim. As variáveis de qualidade das águas e de sedimentos podem ser integradas para a avaliação dos ambientes aquáticos e, dependendo dos usos da água pretendidos, variáveis e índices específicos são adotados para indicar a qualidade destas águas. Dentre as variáveis químicas, os elementos metálicos cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), mercúrio (Hg), níquel (Ni) e zinco (Zn) são considerados tóxicos para as comunidades aquáticas, pela própria CETESB, sendo utilizados no cálculo do índice de qualidade das águas para proteção da vida aquática (IVA) e critério de qualidade de sedimento (CQS) (CETESB, 2009, 2012).

A determinação e quantificação dos contaminantes presentes na água e no sedimento por meio de análises químicas, por si só, não fornece informações suficientes para uma avaliação adequada dos potenciais efeitos adversos causados por esses contaminantes ou pela interação entre eles e seus efeitos nos organismos aquáticos, tampouco nos permite avaliar a biodisponibilidade desses contaminantes, principalmente daqueles presentes nos sedimentos. Devido à dificuldade de se relacionar a concentração dos contaminantes presentes no ambiente aquático e sua biodisponibilidade para os organismos, os testes ecotoxicológicos vêm sendo cada vez mais utilizados de forma integrada e

complementar às determinações químicas em estudos sobre a qualidade destes ambientes (MOREAU & SIQUEIRA, 2008; MOZETO et al., 2006; USEPA, 2000).

Segundo BORGSMANN (2003), existem quatro perguntas-chave que devem ser respondidas quando se realiza uma avaliação de impacto ambiental causado por um contaminante. São elas: (1) Existe uma fonte de inserção do contaminante no ambiente em questão? (2) O contaminante está biodisponível? (3) Está em quantidade que produza um efeito mensurável? (4) É o contaminante avaliado que está causando o efeito observado? Segundo o mesmo autor, estas perguntas devem ser respondidas utilizando uma combinação entre testes químicos, toxicológicos e de comunidades, além da avaliação da correlação entre os resultados dos mesmos. Para a avaliação da contaminação por espécies metálicas em um ambiente aquático, pode-se utilizar das seguintes ferramentas: determinação das espécies metálicas na água, no sedimento e na biota exposta; avaliação da composição da comunidade bentônica local; testes de toxicidade e comparação entre os resultados obtidos.

1.1 Sedimentos

Sedimentos são as camadas de partículas minerais e orgânicas de diferentes tamanhos, formas e composição química, transportadas pela água, ar ou gelo, que se encontram em contato com a parte inferior dos corpos d'água naturais, como lagos, rios e oceanos. São partes essenciais, integrais e dinâmicas das bacias hidrográficas. Sua origem está associada ao intemperismo e erosão de rochas e solos das porções mais altas da área de drenagem. Constituem-se tipicamente por uma mistura de argila, areia, sais minerais e matéria orgânica. Sua composição pode variar desde totalmente mineral até com predominância orgânica, dependendo de fatores naturais ou antrópicos. São compartimentos ambientais que possuem grande potencial de acumulação, tanto de substâncias naturais quanto de natureza antrópica, sendo responsáveis pelo transporte, liberação e acumulação de compostos tóxicos e nutrientes. Tais propriedades transformam os sedimentos em uma das matrizes mais complexas dos ecossistemas aquáticos e muito importante

na avaliação da qualidade dos corpos hídricos, pois funciona como um excelente registro da informação ambiental, tanto no aspecto sazonal, quanto espacial (ARAÚJO et al., 2006; BEVILACQUA, 1996; MUDROCH & MACKNIGHT, 1991 apud BOSTELMANN, 2006; FRANKLIN, 2010; PEREIRA et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; MOZETO et al., 2006).

As substâncias químicas liberadas no ambiente através de processos naturais ou antrópicos podem ser introduzidas nos ecossistemas aquáticos adsorvidas ao material particulado. Estas partículas tendem a se depositar nos sedimentos dos corpos d'água, onde os contaminantes podem ser acumulados ao longo do tempo. Desta forma os sedimentos atuam nos ambientes aquáticos como reservatório dos contaminantes, além de fonte destes para os organismos que vivem ou entram em contato direto com estes sedimentos, devido às características físicas, composição química e propriedades biogeoquímicas próprias destes compartimentos (CCME, 2001). Sedimentos contaminados são, portanto, um problema mundial e podem ser o maior impedimento para a restauração de ambientes aquáticos degradados (CHAPMAN & ANDERSON, 2005).

O sedimento é um dos compartimentos mais importantes no estudo da avaliação da contaminação dos ecossistemas aquáticos, principalmente por acumular compostos orgânicos e inorgânicos que podem ser fonte de contaminação para os organismos bentônicos, por exposição direta, e também para os organismos que vivem na coluna d'água, pela ressuspensão dos contaminantes, provocadas por ações biológicas, tempestades, dragagens, via alimentar ou pela troca entre a água intersticial e a água logo acima dos sedimentos (MOZETO et al., 2006; POWER & CHAPMAN, 1992, ZAMBONI, 1993, ambos apud GARCIA, 2012).

A maioria dos compostos químicos de origem antrópica, como metais pesados, pesticidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e hidrocarbonetos clorados, tende a ficar adsorvido no sedimento, acumulando-se em concentrações superiores àquelas encontradas na água. Estes contaminantes presentes no sedimento podem ou não causar efeitos adversos para a biota, dependendo de uma série de fatores que alteram sua biodisponibilidade e toxicidade (ARAÚJO et al., 2006; INGERSOLL, 1995 apud GARCIA, 2012).

O sedimento possui um importante papel no estudo da poluição de ambientes aquáticos por metais, pois reflete a qualidade histórica de um sistema aquático, podendo ser usado para detectar a presença de contaminantes que não permanecem solúveis na água. Essas substâncias permanecem depositadas nos sedimentos dos rios, lagos e reservatórios por muitos anos, sendo redistribuídos devido a processos biogeoquímicos à água. Uma característica importante dos sedimentos é a granulometria, pois as partículas mais finas possuem uma maior capacidade de reter as substâncias químicas, devido à sua maior área superficial, o que proporciona grande capacidade de interação com íons e moléculas diversas (BEVILACQUA, 1996). De acordo com sua granulometria, os sedimentos podem ser classificados, segundo a Escala Granulométrica de Wentworth (1922) citada por CONAMA (2004), conforme a Tabela 1.1. A caracterização química dos sedimentos deve ser realizada na fração total (partículas < 2 mm) (BOSTELMANN, 2006).

Tabela 1.1 – Classificação granulométrica dos sedimentos

Classificação	Phi (ϕ)*	(mm)
Areia muito grossa	-1 a 0	2 a 1
Areia grossa	0 a 1	1 a 0,5
Areia média	1 a 2	0,5 a 0,25
Areia fina	2 a 3	0,25 a 0,125
Areia muito fina	3 a 4	0,125 a 0,062
Silte	4 a 8	0,062 a 0,00394
Argila	8 a 12	0,00394 a 0,0002

*Phi (ϕ) corresponde à unidade de medida do diâmetro da partícula do sedimento.

Nos últimos anos, a qualidade dos sedimentos vem sendo alvo de preocupação, devido ao lançamento nos corpos d'água de substâncias poluidoras, inorgânicas e orgânicas, provenientes de atividades antrópicas (QUINÁGLIA, 2006). A CETESB utiliza em sua rede de monitoramento, como critérios de avaliação da qualidade dos sedimentos, a determinação de 63 variáveis de qualidade (físicas, químicas, hidrobiológicas, microbiológicas e ecotoxicológicas) consideradas mais representativas para o cálculo do critério de qualidade de sedimento (CQS) (CETESB, 2012). Em relação às substâncias químicas, com vistas à proteção da vida aquática, a CETESB adotou os valores limites estabelecidos pelo Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 2001) para a concentração total de arsênio, metais e compostos orgânicos no sedimento, de forma a avaliar possíveis efeitos deletérios sobre a biota. Esses valores, TEL e PEL, também são adotados para esses elementos, pela Resolução CONAMA 454 de 2012, que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. TEL (Threshold Effect Level) indica a concentração abaixo da qual é rara a ocorrência de efeitos adversos para a biota e PEL (Probable Effect Level) indica a concentração acima da qual é frequente a ocorrência de efeitos adversos para a biota. Na faixa entre TEL e PEL situam-se os valores onde ocasionalmente tais efeitos são esperados. Estes valores têm caráter meramente orientador na busca de evidências da presença de contaminantes em concentrações capazes de causar efeitos adversos à biota (BOSTELMANN, 2006; CETESB, 2012; CCME, 2001). Na Tabela 1.2 estão apresentados os valores de TEL e PEL para arsênio e metais pesados.

Tabela 1.2 – Valores orientadores do CCME para arsênio e metais pesados para água doce

Variável	TEL (mg kg ⁻¹)	PEL (mg kg ⁻¹)	Variável	TEL (mg kg ⁻¹)	PEL (mg kg ⁻¹)
Arsênio	5,9	17	Crômio	37,3	90
Cádmio	0,6	3,5	Mercúrio	0,17	0,486
Chumbo	35	91,3	Níquel	18	35,9
Cobre	35,7	197	Zinco	123	315

Obs.: valores expressos em peso seco do sedimento

Um dos modelos utilizados para descrever os sedimentos está baseado no fenômeno de partição. Este fenômeno prevê que os contaminantes inseridos nos corpos aquáticos, dependendo das condições físico-químicas e da composição dos sedimentos, são distribuídos entre a fase aquosa, adsorvidos às partículas do sedimento ou presentes na água intersticial nos sedimentos. Na maioria dos estudos baseados no fenômeno da partição, o real objetivo das investigações não é o sedimento, mas sim a sua água intersticial, pois é nela que estão os produtos finais deste fenômeno, sendo considerada como a fase que contém os metais e outras substâncias verdadeiramente disponíveis e, portanto, potencialmente tóxicas aos organismos aquáticos. Desta forma, a água intersticial é considerada uma das principais rotas de exposição dos contaminantes para a biota, pois mesmo sendo, na maioria das vezes, mais baixas as concentrações dos contaminantes na água intersticial em relação aos sedimentos, os organismos bentônicos filtram essa fase solúvel, promovendo a bioacumulação desses contaminantes (ARAÚJO et al., 2006; MOZETO et al., 2006).

Devido a dificuldades em avaliar a biodisponibilidade dos contaminantes presentes no sedimento, os dados de análises químicas tem uso limitado na avaliação da qualidade dos sedimentos. Para uma avaliação completa da qualidade de sedimentos, além da classificação dos contaminantes químicos de acordo com

os critérios sugeridos pelo CCME, é necessária a utilização de testes de toxicidade e avaliação da comunidade bentônica local, para uma avaliação integrada da qualidade (BEVILACQUA, 1996; CETESB, 2012; GARCIA, 2012).

ARAÚJO et al. (2006) citam vários estudos realizados objetivando a determinação de critérios que pudessem ser utilizados para a avaliação da qualidade dos sedimentos. Os autores citam MÜLLER (1979), que propôs o uso do Índice de Geoacumulação (*Igeo*), que compara a concentração dos elementos medidos no sedimento com valores-base geoquímicos, classificando o sedimento devido ao enriquecimento em relação a estes contaminantes. Esta metodologia não leva em consideração a biodisponibilidade dos contaminantes presentes nos sedimentos. Outros autores propõem a realização de testes de toxicidade em campo ou laboratório com os sedimentos contaminados, usando várias espécies de organismos padronizados. Este procedimento também apresenta limitações, pois seria necessária a realização de grande número de ensaios, além da dificuldade de extrapolar os resultados para a biota. Vários outros métodos foram propostos, inclusive métodos estatísticos, mas todos apresentam limitações que comprometem sua eficácia no diagnóstico da qualidade dos sedimentos, dificultando a tomada de decisões.

CHAPMAN (1986) apud ARAÚJO et al. (2006) propôs uma abordagem combinando três linhas de evidências: testes de toxicidade em laboratório, sob condições padronizadas, para avaliar os efeitos dos contaminantes para a biota; caracterização química, para medir o nível da contaminação dos sedimentos; e o estudo da comunidade do local, como por exemplo a comunidade bentônica, para avaliar as condições da contaminação em campo. Como três componentes são levados em consideração, essa abordagem é denominada tríade da qualidade do sedimento. Esse método incorpora a avaliação dos efeitos das interações entre os contaminantes presentes nos sedimentos, identificados ou não por determinações químicas, com os fatores ambientais e físicos que influenciam as respostas dos organismos aquáticos, avaliados em campo e em laboratório. A grande vantagem da tríade é que, integrando vários parâmetros, o grau de incerteza para determinar a contaminação de uma área é bastante reduzido. Tem sido considerada a melhor

linha de estudo para sedimentos e sua utilização tem crescido no mundo inteiro, sendo empregada em estudos de caracterização, avaliação e monitoramento da qualidade de sedimentos e dos ecossistemas aquáticos, na avaliação de risco ecológico de sedimentos contaminados, na derivação de critérios de qualidade de sedimentos e no gerenciamento ambiental (CETESB, 2007). A CETESB adota atualmente a abordagem da tríade na avaliação da qualidade dos sedimentos em sua rede de monitoramento.

1.2 Metais

Os metais são geralmente definidos segundo suas propriedades físicas no estado sólido. As principais propriedades físicas dos metais são: alta refletividade, responsável pelo brilho metálico característico; alta condutividade elétrica, decrescente com o aumento da temperatura; alta condutividade térmica e propriedades mecânicas como a dureza e ductilidade. Metais no estado sólido também são caracterizados pela sua estrutura cristalina, pelas ligações químicas específicas e pelas propriedades magnéticas. Porém, para a compreensão dos efeitos tóxicos dos metais, são mais importantes as propriedades dos metais quando em solução aquosa. Desta forma, metais podem ser definidos como elementos que, em sistemas biológicos, reagem perdendo um ou mais elétrons para formar cátions (NORDBERG et al., 2007).

No estudo da toxicologia dos elementos metálicos, a distinção entre metais e não metais, seja em função de suas propriedades físicas ou químicas, não é exatamente nítida. Portanto, alguns metaloides estritamente definidos são incluídos neste contexto, devido à capacidade de produzirem efeitos adversos aos organismos, quer por si próprios ou pela interação com outros elementos. Eles exibem certas propriedades que são típicas dos metais, enquanto outras propriedades os tornam semelhantes aos não metais. Elementos limítrofes, tais como As, Ge, Sb, Se, Te são chamados metaloides (NORDBERG et al., 2007). Porém, neste trabalho, estes elementos não serão distinguidos, sendo denominados metais ou, em alguns casos, elementos metálicos.

Dentre os diversos contaminantes ambientais estudados, os metais são amplamente citados, pois são um dos mais antigos problemas que afetam o meio ambiente, devido ao grande uso desses elementos pelo homem, desde a antiguidade até a vida moderna. Os metais são encontrados nas mais variadas formas químicas (elementar, dissolvidos, adsorvidos a partículas sólidas, complexados, entre outras) e estão distribuídos nos mais diversos compartimentos ambientais, tais como solo, água, ar, sedimento, organismos vivos. Os elementos metálicos são encontrados em todos os organismos vivos e desempenham uma variedade de funções, podendo ser elementos estruturais, estabilizadores de estruturas biológicas, componentes de mecanismos de controle, como nervos e músculos e, em particular, são ativadores ou componentes de sistemas redox. Desta forma, alguns metais, como magnésio, ferro, zinco, manganês, cobre e cobalto, são considerados elementos essenciais à saúde e sobrevivência de diversos organismos (micronutrientes), enquanto outros são considerados contaminantes, apresentando toxicidade para os mais diferentes seres vivos. Mesmo os essenciais, quando em altas concentrações, podem apresentar efeitos adversos para os organismos. Assim, o monitoramento de espécies metálicas nos diversos compartimentos ambientais se tornou uma ferramenta de particular importância, pois todos os seres vivos, de alguma forma, estão expostos a essas substâncias (DORNFELD, 2002; QUINÁGLIA, 2006; NORDBERG et al., 2007; SARKAR, 2002).

Em ambientes aquáticos, os metais, provenientes das descargas industriais e de fontes difusas, como a precipitação e carreamento de áreas agrícolas e urbanas pelas águas da chuva, existem em equilíbrio químico entre as formas livre, íons dissolvidos, complexos orgânicos e inorgânicos e ligados a partículas orgânicas e inorgânicas. Podem ser encontrados em diferentes compartimentos de um ecossistema aquático, como na água, em materiais particulados em suspensão, no sedimento e na biota. Esses compartimentos possuem forte interação entre si. Os metais em solução podem adsorver-se ao material particulado, que ao sedimentar-se, transportam-no para o sedimento. Este, por sua vez, ao ser resuspenso ou a partir de alterações nas características físico-químicas do ambiente (pH, condições redox), pode disponibilizar metais para o corpo d'água. Os organismos que vivem

no sedimento ou na coluna d'água entram em contato com os metais a partir da alimentação ou por mecanismos de absorção dos mesmos sendo, desta forma, transferidos para a cadeia trófica. Em geral, a mistura e deposição de substâncias químicas em ambientes aquáticos ocorrem nos sedimentos, os quais desempenham um importante papel nestes ambientes, funcionando como fonte ou sumidouro de metais para a coluna d'água, dependendo das condições físico-químicas locais. (AHSANULLAH et al., 1984, ADAMS et al., 1992 ambos apud BERVOETS et al., 1994; DORNFELD, 2002; ESPÍNDOLA et al., 2004; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SALOMONS & STIGLIANI, 1995).

Algumas características dos elementos metálicos estudados neste trabalho estão descritas a seguir:

1.2.1 Arsênio

O arsênio é um metaloide de símbolo As (do latim *arsenicum* – pigmento amarelo, em referência a um mineral deste elemento, de coloração amarela), descoberto em 1250 por Albertus Magnus. Está amplamente distribuído na crosta terrestre e é sabidamente altamente tóxico para os seres humanos. Tanto as atividades naturais quanto as antrópicas resultam em significativo aporte de arsênio no ambiente. Entre as atividades antrópicas, estão a mineração, fundição e beneficiamento de minérios, pesticidas, fertilizantes, fabricação de circuitos semicondutores, espelhos metálicos, esmaltes e tintas, usinas térmicas que utilizam carvão, preservação de madeiras utilizando CCA (arsenato de cobre e cromo) e incineração destas madeiras preservadas, entre outros. O aporte de As no ambiente por fontes naturais inclui processos de intemperismos de solos e rochas, erupções vulcânicas, incêndios florestais, evaporação dos oceanos, mineração, águas termais e gêiseres, além da possibilidade da contaminação de lençóis freáticos pela lixiviação de rochas ricas em As. O arsênio pode ser transportado por longas distâncias adsorvido a partículas em suspensão no ar ou na água (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

Normalmente o arsênio está presente em águas naturais nas formas As (III) e As (V). Sob condições anaeróbicas e redutoras, o As (III) como ácido arsenioso (H_3AsO_3) prevalecerá. Em condições oxidantes e com presença de oxigênio dissolvido, a forma As (V) como H_2AsO_4^- e HAsO_4^{2-} irá prevalecer. Águas de rios e lagos, livres de contaminação por fontes antrópicas, geralmente apresentam concentrações de As inferiores a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (QUINÁGLIA, 2006).

O arsênio, em baixas concentrações, é considerado essencial para os organismos, porém a exposição a altas concentrações de arsênio no ambiente demonstraram toxicidade para animais, plantas e para o homem. É utilizado, historicamente, em vários casos de envenenamento homicidas ou suicidas, provavelmente devido ao seu baixo custo, disponibilidade comercial e o fato de ser inodoro e insípido. Um dos episódios históricos de suposto envenenamento por arsênio é o de Napoleão Bonaparte, que em 1960 foi confirmada a presença deste elemento em análises realizadas em seus cabelos (QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

Geralmente, compostos de As (III) são mais tóxicos que compostos de As (V) e compostos inorgânicos de arsênio são mais tóxicos que compostos organoarsênicos. Arsênio elementar é a forma que apresenta menor toxicidade. Arsenobetaína e arsenocolina são relativamente não tóxicos. Arsenoaçúcares são encontrados em algas marinhas. Alguns peixes e crustáceos contêm altos teores de arsênico orgânico, muitas vezes na forma de arsenobetaína. Na maioria dos outros alimentos, os níveis de arsênio são baixos e a forma não é conhecida. (NORDBERG et al., 2007; SARKAR, 2002).

1.2.2 Cádmi

O cádmio é um metal de símbolo Cd (do latim, *cadmia* e do grego *kadmeia* – significa calamina, antigo nome para o carbonato de zinco), descoberto em 1817 pelo químico alemão Friedrich Strohmeyer. É um metal dúctil e flexível, de coloração prateado com aparência semelhante ao zinco. O cádmio é um metal considerado como não essencial e de alta toxicidade, sendo que seus sais podem ser

cancerígenos. Está amplamente distribuído pela crosta terrestre, ocorrendo naturalmente associado ao zinco e chumbo em minérios. Pode ser encontrado em altas concentrações em rochas sedimentares e fosfatos marinhos. É encontrado como subproduto do processamento de zinco, cobre e chumbo, sendo frequentemente encontrado em altas concentrações nas áreas de mineração e depósito desses metais. Elevadas concentrações podem ocorrer em água, ar e solo próximo a fontes de emissões industriais. Compostos inorgânicos de cádmio, em sua maioria, são solúveis em água, por exemplo, cloreto, sulfato, acetato, enquanto que óxidos e sulfuretos têm baixa solubilidade, sendo considerados como espécies insolúveis de Cd. Formam com muita facilidade íons aminocomplexos $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ e cianocomplexos $[\text{Cd}(\text{CN})_4]^{2-}$ além de complexos com grupos de enxofre, como por exemplo, tiocarbamato (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

Entre os usos do cádmio citam-se os anticorrosivos, eletrodeposição sobre ferro, cobre, latão, aço e outras ligas, além do uso em pigmentos, tintas e esmaltes. Cádmio e seus compostos também são usados em baterias elétricas, componentes eletrônicos, fotografia e fotogravura e reatores nucleares. Devido à possibilidade da substituição do Cd por outros materiais menos tóxicos, a utilização do Cd tem sido limitada por lei em alguns países (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

O aporte de cádmio em sistemas aquáticos deve-se a fatores como intemperismo e erosão de solos e rochas, descargas atmosféricas, operações industriais, vazamento de aterros e locais contaminados, pelo uso de lodos e fertilizantes na agricultura além de efluentes industriais, principalmente de galvanoplastias, produção de pigmentos, soldas, equipamentos eletrônicos, lubrificantes e acessórios fotográficos. Nos sedimentos o cádmio é incorporado por adsorção a partículas minerais, óxidos hidratados e matéria orgânica e a forma química como se encontra pode determinar sua biodisponibilidade e remobilização. Na forma de carbonatos, hidróxidos, sulfetos e coprecipitado com óxido de ferro, torna-se menos suscetível de ser mobilizado por ressuspensão dos sedimentos ou atividade biológica. Porém, quando associado às partículas de argila ou materiais

orgânicos, torna-se mais fácil de ser bioacumulado ou liberado quando há distúrbios ambientais. O cádmio pode ser mobilizado no sedimento devido à modificação de pH, salinidade e potencial redox (QUINÁGLIA, 2006).

O cádmio se bioacumula em plantas aquáticas, invertebrados, peixes e mamíferos. A acumulação de Cd ocorre em vários tecidos, particularmente com meia-vidas longas (10 a 30 anos), tendo sido relatado acumulação de Cd em músculos, rim, pulmão e fígado. A ingestão de alimentos ou bebidas altamente contaminadas resulta em efeitos gastrointestinais agudos, com diarreias e vômitos, podendo chegar à morte. A inalação de ar contaminado com cádmio pode causar pneumonia química grave, obstrução pulmonar crônica e até câncer de pulmão. A exposição crônica ao cádmio pode danificar os rins. No Japão, na década de 60, a contaminação da água que irrigava as plantações de arroz causou a doença conhecida como “Itai-Itai”, caracterizada por extrema dor generalizada, dano renal e fragilidade óssea. Experimentos com animais demonstram que o metal produz efeitos tóxicos em vários órgãos, como fígado, rins, pulmão e pâncreas. É um metal que se acumula em organismos aquáticos, possibilitando sua entrada na cadeia alimentar (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

1.2.3 Chumbo

O chumbo é um metal de símbolo Pb (do latim, *plumbum* – prata líquida), conhecido desde a antiguidade, não possuindo registros de sua descoberta. Os alquimistas o consideravam “o mais velho dos metais”. É um metal mole e maleável, de coloração branco-azulada, mal condutor de eletricidade e pirofórico quando na forma de pó. O chumbo é encontrado de forma relativamente abundante na crosta terrestre, sendo pouco encontrado em sua forma elementar ocorrendo, na maioria das vezes, como sulfeto, sulfato e carbonato de chumbo. É um metal tóxico para o homem e a biota (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

O chumbo está presente no ar, tabaco, bebidas e nos alimentos. É obtido a partir da mineração. Tem ampla aplicação industrial, sendo seu uso predominante (cerca de 71%) na fabricação de baterias, principalmente veiculares. Também é

muito usado na fabricação de tintas, esmaltes, inseticidas, vidros, absorvedor de ruídos. Devido à sua resistência à corrosão, é muito usado na fabricação de recipientes para armazenamento de ácido sulfúrico, fabricação de condutores de gases, ligas metálicas antifricção. É também muito usado na blindagem protetora de usinas nucleares e equipamentos que liberem radiação, como por exemplo, máquinas de raios-X. Outro uso em larga escala durante o século vinte era a adição de compostos orgânicos de chumbo à gasolina, que teve seu uso banido devido à alta contaminação ambiental causada por esse uso (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

A presença do metal na água ocorre por deposição atmosférica ou lixiviação do solo e, principalmente, por fontes antrópicas. Ao ser inserido no ambiente aquático, divide-se rapidamente entre o sedimento e a coluna d'água, dependendo do pH da água, dos sais dissolvidos e presença de agentes complexantes orgânicos. A exposição da população em geral ocorre principalmente por ingestão de alimentos e bebidas contaminados. O chumbo pode afetar quase todos os órgãos e sistemas do corpo, mas o mais sensível é o sistema nervoso, tanto em adultos como em crianças. O chumbo acumula nos dentes e no esqueleto, onde ele pode ser determinado por métodos *in vivo*, que reflete exposição de longo prazo. Afeta também sistemas do sangue (incluindo a inibição da síntese da hemoglobina), rim, cardiovascular, sistemas endócrino e imune, trato gastrointestinal e reprodução masculino (qualidade de esperma), provoca aumento da pressão arterial. A exposição aguda causa sede intensa, sabor metálico, inflamação gastrintestinal, vômitos e diarreias. Na exposição prolongada são observados efeitos renais, cardiovasculares, neurológicos e nos músculos e ossos, entre outros. É um composto cumulativo provocando um envenenamento crônico denominado saturnismo (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

1.2.4 Cobre

O cobre é um metal de símbolo Cu (do latim, *cuprum* – da ilha de Chipre) descoberto a cerca de 9500 a. C. na região onde atualmente se situa o Iraque. É um

metal de alta ductilidade e maleabilidade, de coloração marrom-avermelhada. Está amplamente distribuído pela crosta terrestre, apresentando abundância natural. Ocorre naturalmente em todas as plantas e animais e é um nutriente essencial em baixas doses, porém em doses elevadas é capaz de produzir intoxicações no homem, como lesões no fígado. É um componente essencial de grande número de enzimas. A absorção do cobre depende da quantidade ingerida, da forma química e da composição dos componentes presentes na dieta, como o zinco. O cobre atua como auxiliar na síntese da hemoglobina e no metabolismo do colágeno. As mais altas concentrações, tanto em adultos quanto em recém-nascidos, são encontradas no fígado, porém também o cérebro, músculos e ossos possuem altas concentrações deste metal (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

O cobre possui elevada condutividade térmica e elétrica, baixa corrosividade e capacidade de formar amálgama. Devido a estas propriedades é largamente utilizado pelo homem na indústria elétrica, linhas de transmissão, enrolamento de motores, odontologia, veneno agrícola, preservantes de madeiras, fabricação de tubos, válvulas, acessórios para banheiro, ligas e revestimentos. Na forma de sulfato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) é usado como algicida. O cobre também é um importante elemento formador de ligas metálicas, sendo as mais conhecidas o latão (cobre e zinco) e o bronze (cobre e estanho). Ligas de cobre-níquel são utilizadas como material de cunhagem e também na medicina, como em pontes e coroas dentárias e dispositivos contraceptivos intrauterinos (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

As fontes de inserção de cobre no meio ambiente incluem minas de cobre ou de outros metais, corrosão de tubulações de latão por águas ácidas, efluentes de estações de tratamento de esgotos, uso de compostos de cobre como algicidas, escoamento superficial, contaminação da água subterrânea a partir do uso agrícola do cobre e precipitação atmosférica de fontes industriais. Para peixes, muito mais que para o homem, as doses elevadas de cobre são extremamente nocivas. Concentrações de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ são letais para trutas, carpas, bagres, peixes

vermelhos de aquários ornamentais e outros. Doses acima de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ são letais para micro-organismos (CETESB, 2011).

Nos seres humanos a carência de cobre pode levar à redução da absorção de ferro, aumentando a possibilidade de enfraquecimento dos ossos, lesões cardíacas, anemias e infertilidade. Porém, o excesso de cobre pode provocar distúrbios gastrointestinais, hipertensão, depressão, esquizofrenia, convulsões, aumento de colesterol e necrose do fígado e danos nos rins (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

1.2.5 Crômio

O crômio é um metal de símbolo Cr (do latim, *chroma* - cor), descoberto na Rússia em 1765 por P. S. Pallas, mas foi isolado somente em 1797 pelo químico francês Louis-Nicholas Vauquelin. É um metal de alta dureza, de coloração cinza aço, com forma cristalina cúbica, sem odor e muito resistente à corrosão. Está amplamente distribuído pela crosta terrestre, não sendo encontrado livre na natureza, mas ocorrendo associado ao ferro em minérios de ferrocromita (FeCr_2O_4), além de outros óxidos. O crômio, na forma trivalente, é essencial ao metabolismo humano e sua carência causa doenças. Na forma hexavalente, é tóxico e cancerígeno (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

O crômio é utilizado na produção de ligas metálicas, estruturas da construção civil, fertilizantes, indústrias gráficas, tintas, pigmentos, curtumes, preservativos para madeira, produtos anticorrosão, soldagem, entre outros (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

Quase todo o crômio presente no ambiente provém de fontes antrópicas, sendo os efluentes industriais a principal forma de aporte de Cr nos ambientes aquáticos. Quando inserido na água, tende a depositar-se nos sedimentos, podendo uma pequena porção encontrar-se na água, tanto na forma insolúvel quanto solúvel, como Cr^{6+} e complexos de Cr^{3+} . O crômio bioacumula em plantas, peixes, camarões, ostras e outros organismos aquáticos (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

O cromo é encontrado em todos os órgãos humanos de adultos e recém-nascidos. A principal via de introdução do cromo no organismo é a respiratória, sendo que sua absorção dependerá do tamanho da partícula, da solubilidade e do número de oxidação, pois a absorção de Cr (VI) pelas vias aéreas e trato digestivo é muito mais rápida que a do Cr (III). As concentrações de Cr são geralmente mais elevadas no tecido pulmonar, tendendo a aumentar com a idade, provavelmente devido à inalação e retenção de compostos de Cr com baixa solubilidade em água. A exposição a compostos de Cr (VI) é a principal fonte de efeitos adversos, tanto agudos como crônicos. A reação alérgica da pele é o efeito mais frequentemente observado, além das ulcerações da mucosa do septo nasal e úlceras da pele. A exposição prolongada por inalação de compostos de Cr (VI) apresenta alto risco de carcinomas dos órgãos respiratórios. Alguns compostos de Cr (VI) quando inalado parecem estar entre os mais potentes compostos carcinogênicos para o ser humano. Muitos experimentos com injeção de diferentes compostos Cr em animais resultaram em câncros locais na pele e no tecido muscular. Estudos demonstram que compostos de Cr (VI) induzem mutações, aberrações cromossômicas, danos no DNA sob a forma de quebra de filamento único, ligações cruzadas DNA-proteína e DNA-DNA (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

1.2.6 Níquel

O níquel é um metal de símbolo Ni (do alemão, *nickel* - satã), isolado pela primeira vez em 1751 por Cronstedt. É um metal de relativa dureza, dúctil, maleável, de coloração branco-prateada. Está amplamente distribuído pela crosta terrestre, sendo encontrado principalmente como minérios de sulfeto ou óxido, mas ocorre também na forma livre na natureza. O níquel é resistente à corrosão pelo ar, água e álcalis, propriedade esta que, juntamente com seu brilho metálico e baixo custo, transformaram as ligas de níquel nas mais populares para fabricação de joias como brincos e *piercings*. Segundo STANGL & KIRCHGESSNER, 1996 apud NORDBERG et al., 2007, o níquel é considerado essencial para animais, sendo que a deficiência de níquel reduz o crescimento, desenvolvimento, especialmente intrauterino e interfere severamente no metabolismo lipídico em ratos, porém a essencialidade do

níquel em humanos ainda não foi devidamente comprovada. Em altas concentrações é tóxico, provocando infarto de miocárdio, irritação gástrica e dermatites, se em contato com a pele. O efeito adverso mais comum da exposição ao níquel é uma reação alérgica, sendo que cerca de 10 a 20% da população é sensível ao metal. Em 1990 a IARC (do inglês, Agência Internacional para Pesquisas do Câncer) concluiu que o níquel é cancerígeno para humanos, podendo causar câncer de pulmão, seios e face (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006).

O níquel e seus compostos são utilizados em galvanoplastia, na fabricação de aço inoxidável, produção de baterias Ni-Cd, catálise química, fabricação de componentes eletrônicos, tais como transistores, moedas, joias, relógios, pigmentos, fabricação de margarinas e manteigas, entre outros usos. A maior contribuição antrópica para o meio ambiente é a queima de combustíveis fósseis, além da mineração e fundição do metal, fusão e modelagem de ligas, indústrias de eletrodeposição, fabricação de alimentos, artigos de panificadoras, refrigerantes e sorvetes aromatizados (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

Níquel em águas superficiais provém de escoamento do solo e pilhas de rejeitos, a partir do lixiviamento de aterros sanitários e deposição atmosférica. Efluentes industriais e municipais é outra fonte importante de níquel em águas de superfície. Uma vez inserido nos corpos d'água, é transportado como partículas precipitadas com material orgânico. Nos sedimentos está depositado sob a forma de precipitados complexos, adsorvidos sobre a argila. A lixiviação a partir do solo é responsável por grande parte do níquel encontrado nas águas subterrâneas, sendo que este processo é acelerado em regiões suscetíveis à chuva ácida (CETESB, 2011; NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SARKAR, 2002).

1.3 Metais em sedimentos

Metais emitidos para a atmosfera são geralmente ligados a pequenas partículas, que possuem um elevado potencial de transporte de longa distância na atmosfera. Estas partículas, devido a vários processos que podem ocorrer no

ambiente, são finalmente inseridas nos ambientes aquáticos. Os sedimentos são o destino final para os metais emitidos para o ambiente. Em ambientes aquáticos, os metais podem estar distribuídos entre as diversas fases, encontrando-se solúveis na água, na forma coloidal, adsorvidos no material em suspensão e uma grande parte incorporada aos sedimentos. De modo geral, os sedimentos têm uma alta capacidade de reter espécies químicas orgânicas e inorgânicas, sendo que menos de 1% das substâncias presentes em um corpo d'água encontram-se dissolvidas na água e, conseqüentemente, mais de 99% são estocadas no sedimento. Metais podem se ligar no conteúdo orgânico dos sedimentos, nos argilominerais e formarem complexos mistos com oxianions disponíveis. Mesmo no sedimento com altas concentrações de metais, a capacidade de ligação dos sedimentos não satura (NORDBERG et al., 2007; PEREIRA et al., 2007).

Nos diversos compartimentos ambientais os metais encontram-se em níveis traço e subtraço, porém nos sedimentos são encontrados níveis elevados desses elementos, principalmente sedimentos de corpos d'água associados a atividades antrópicas. A biodisponibilidade dos metais nos sedimentos e, portanto, a toxicidade pode ser afetada pela ligação dos metais aos constituintes dos sedimentos. Os metais podem estar na forma livre em solução, complexados à matéria orgânica dissolvida ou coloidal, presentes na água intersticial ou ligados às partículas do sedimento (ARAÚJO et al., 2006; QUINÁGLIA, 2006).

Metais em sedimentos podem existir em diferentes formas químicas. Quando os sedimentos não sofrem ação antrópica, os metais encontram-se principalmente ligados aos silicatos e aos minerais primários, portanto com baixo grau de mobilidade. Já os metais incorporados a partir de atividades antrópicas apresentam maior mobilidade, pois se encontram ligados a outras fases do sedimento, como carbonatos, óxidos, hidróxidos e sulfetos. Diferentes variáveis como a composição dos sedimentos e os processos que controlam o transporte e a redistribuição dos elementos, como adsorção, dessorção, precipitação, solubilização e floculação determinam o comportamento desses ambientes (PEREIRA et al., 2007).

A granulometria pode controlar a concentração dos elementos traço nos sedimentos, sendo que as partículas mais finas têm maior capacidade de remoção e

adsorção de metais, quando comparadas às de maior granulometria, devido à sua maior área superficial. Essas superfícies são frequentemente mais reativas que a fase mineral carreadora, devido à presença de hidróxidos de ferro (III) e manganês (VI), além da matéria orgânica e minerais específicos, com carbonatos, que podem estar concentrados em certos tamanhos de grãos, dependendo da dinâmica do ambiente sedimentar (BEVILACQUA, 1996).

Além de emissões diretas, feitas pelo homem, alterações ambientais, como a acidificação, esgotamento de oxigênio e drenagem de áreas alagadas podem mobilizar metais de outra forma não disponíveis para os organismos (NORDBERG et al., 2007). Processos naturais responsáveis pela formação dos sedimentos podem ser alterados por atividades antrópicas e a análise de sedimentos fornece informações significativas sobre o meio ambiente. Sua caracterização química é necessária para o entendimento dos processos naturais e também da influência antrópica nesses processos (IAEA, 2003). Além disso, a concentração de metais potencialmente tóxicos para a biota nos sedimentos normalmente excede suas concentrações nas águas de três a cinco vezes (BRYAN & LANGSTON, 1992).

O sedimento dos ambientes aquáticos pode ser utilizado no estudo de poluição, como indicador da presença e da concentração de metais pesados. Além disso, a análise de perfis de metais pesados permite o levantamento histórico da ação antrópica do local de estudo (FÁVARO et al., 2007). Com o emprego da análise de sedimentos destes sistemas aquáticos, pode-se avaliar a contaminação dos mesmos por metais potencialmente tóxicos para a biota (PRESLEY et al., 1980), compreender os fenômenos de transporte que ocorrem nestes complexos sistemas e traçar um histórico da poluição (AL-JUNDI et al., 2001).

Técnicas analíticas nucleares e relacionadas são usadas para esta análise. A espectrometria de raios gama é usada para a determinação de radionuclídeos naturais e/ou artificiais, enquanto a análise por ativação neutrônica (NAA) e fluorescência de raios X (XRF), são usadas para a caracterização multielementar. Outras técnicas não destrutivas utilizadas na análise de sedimentos são: análise por feixe de íons (IBA) que inclui a técnica PIXE (Emissão de Partículas induzidas por raios X) e “Rutherford Backscattering Spectrometry” (RBS) (IAEA, 2003).

A maioria das determinações de elementos maiores, menores e traço em sedimentos usando técnicas analíticas destrutivas, envolve técnicas como a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ou espectrometria de massa (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica (AAS). Alguns métodos eletroquímicos, espectrometria de massa por diluição isotópica, métodos fluorimétricos e espectrofotométricos são usados, mas as técnicas de preparação da amostra não são diferentes.

A técnica de NAA vem sendo largamente utilizada para a análise de solos e sedimentos (REZAEI et al., 2011; CRISTACHE et al., 2009), e no Brasil vem sendo utilizada em diferentes estudos e regiões pelo grupo de pesquisadores do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN) do IPEN/CNEN – SP (AMORIM et al., 2007, 2008, 2009; FÁVARO et al., 2001; 2007; FIGUEIREDO et al., 2009; FRANKLIN et al., 2012, GUIMARÃES et al., 2012; LARIZZATTI et al., 2001).

1.4 Avaliação ecotoxicológica de água e sedimentos

Os testes ecotoxicológicos são utilizados para verificar os efeitos adversos sobre os organismos vivos causados pelas substâncias químicas ou pela mistura destas, liberadas no ambiente, além de estudar as causas desses efeitos e os mecanismos de ação das substâncias nos organismos, tendo como principal objetivo a proteção das comunidades de um ambiente. Podem utilizar organismos como bactérias, fungos, algas, crustáceos, entre outros, ou parte destes, como sistemas celulares, para avaliação da toxicidade. Podem ser realizados mantendo o organismo teste em contato com a amostra durante determinado período de tempo e avaliando os efeitos causados (diminuição de mobilidade, redução da emissão de luz, morte) ou coletando organismos nativos do ambiente para verificação desses efeitos (defeitos de reprodução e crescimento) (AZEVEDO & CHASIN, 2003; MOREAU & SIQUEIRA, 2008; MOZETO et al., 2006; ZAGATTO, 2006).

Testes de toxicidade em efluentes, sedimentos e corpos d'água contaminados é uma parte muito importante do monitoramento da poluição ambiental. Parâmetros físicos e químicos, utilizados comumente para este tipo de

monitoramento são limitados, indicando apenas a natureza dos contaminantes, porém não fornecem informação sobre os efeitos biológicos causados. A avaliação dos efeitos biológicos utilizando métodos rápidos, simples, sensíveis e de baixo custo pode indicar informações específicas sobre a toxicidade destes poluentes nos diversos compartimentos ambientais. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas em todo o mundo buscando o desenvolvimento de bioensaios para monitorar e avaliar os efeitos do aporte destes contaminantes no ambiente. Tradicionalmente, crustáceos, peixes e algas são utilizados para a medição de toxicidade aquática. Os testes utilizando estes organismos normalmente requerem grandes tempos de exposição e volume de amostra. Portanto, os testes de toxicidade que utilizam micro-organismos como organismos-teste, vêm sendo cada vez mais utilizados no monitoramento ambiental, devido à sua rapidez, eficácia e reprodutibilidade (KNIE & LOPES, 2004; MOZETO et al., 2006; PARVEZ et al., 2006).

Segundo RAND (1980) apud ARAGÃO & ARAÚJO (2006), os testes de toxicidade podem ser utilizados para diversos fins, como por exemplo, para determinar a toxicidade de agentes químicos, efluentes, lixiviados de resíduos sólidos, dentre outros; estabelecer critérios e padrões de qualidade das águas; estabelecer limites máximos de lançamento de efluentes líquidos em corpos hídricos; avaliar a necessidade de tratamento de efluentes líquidos quanto às exigências de controle ambiental; avaliar a qualidade das águas; avaliar a toxicidade relativa de diferentes substâncias; avaliar a sensibilidade relativa de organismos aquáticos; subsidiar programas de monitoramento ambiental e estimar os impactos provocados em acidentes ambientais.

No sedimento, os testes de toxicidade permitem avaliar efeitos causados pela interação de misturas complexas sobre os organismos aquáticos, medindo os efeitos tóxicos das frações biodisponíveis presentes nos sedimentos, em condições controladas de laboratório ou através de testes em campo. Os testes de toxicidade são, portanto, úteis para o estabelecimento de concentrações aceitáveis de contaminantes que podem estar presentes no sedimento, isto é, concentrações em que não se esperam efeitos para os organismos bentônicos (ARAÚJO et al., 2006).

Os primeiros registros da utilização de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos são da década de 1920, sendo os peixes os primeiros organismos utilizados. Durante as décadas de 1940 e 1950 aumentaram os trabalhos nesta área, surgiram diferentes métodos de ensaios e os pesquisadores perceberam que diferenças nas condições dos testes acarretavam diferentes resultados, demonstrando a necessidade de padronização. Atualmente, vários ensaios de toxicidade já estão bem estabelecidos, sendo alguns padronizados nacional e internacionalmente por associações e organizações de normalização (ARAGÃO & ARAÚJO, 2006).

Segundo GIESY & HOKE (1989) apud DOHERTY (2001), os testes para avaliar a toxicidade de solos e sedimentos utilizando organismos devem possuir, não estando limitados, as seguintes características: facilidade de cultura e manutenção dos organismos; respostas previsíveis e consistentes nos controles de sensibilidade dos organismos-teste; similaridade quanto a sensibilidade de uma espécie única do organismo-teste em relação a uma ampla gama de substâncias tóxicas; correlação entre os resultados dos testes obtidos em laboratório e observações de efeitos adversos em campo; devem ser aplicáveis a uma grande variedade de tipos de sedimentos e ambientes; devem ser rápidos, reprodutíveis, baratos e de fácil implementação; devem ser padronizáveis; e, finalmente, serem suficientemente sensíveis para identificar áreas de baixa toxicidade.

Devido à dificuldade em satisfazer todos estes pontos utilizando um único organismo ou teste, alguns estudos são realizados utilizando um teste que não atenda a todos os critérios acima, ou a necessidade pode ser satisfeita através de uma bateria de testes que, combinados, satisfazem muitos destes pontos necessários para concluir uma pesquisa. Um organismo que tem sido cada vez mais incluído nos estudos de monitoramento de solo e sedimento, desde meados dos anos 1980 é a bactéria marinha luminescente *Vibrio fischeri* (BETTINARDI, 2009; DOHERTY, 2001).

1.4.1 Teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

Dentre os diversos testes ecotoxicológicos existentes, o de toxicidade aguda utilizando a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* vem sendo muito utilizado para a determinação de toxicidade em amostras ambientais em diferentes partes do mundo. O *V. fischeri* é uma bactéria marinha, Gram negativa e anaeróbia facultativa que emite luz naturalmente, sob condições ambientais favoráveis e concentrações de oxigênio superiores a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.

Este teste é baseado na medida da luminescência produzida por uma cultura de aproximadamente um milhão de células de *Vibrio fischeri*. A luminescência está diretamente associada ao metabolismo bacteriano. Durante seu metabolismo, a bactéria utiliza parte da energia produzida no ciclo de Krebs para emitir luz verde-azulada, de comprimento de onda de 490 nm. Quando entra em contato com substâncias tóxicas, capazes de interferir na produção de energia, as bactérias diminuem ou cessam a emissão de luz. Quanto mais tóxica a amostra, maior a diminuição da luminescência. Esta diminuição na emissão de luz das bactérias é medida em um luminômetro de precisão.

O teste pode ser empregado no monitoramento da qualidade de águas naturais, águas residuárias, sedimentos, resíduos sólidos e atendimento a emergências decorrentes de acidentes ambientais. Várias substâncias são tóxicas para o *V. fischeri*, dentre elas metais, fenóis, benzeno e seus derivados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, praguicidas, antibióticos e compostos clorados. Apesar de ser utilizado um organismo marinho, apresenta resultados similares a outros testes, tanto para a avaliação da toxicidade de águas doces como de sedimentos. As grandes vantagens são a sensibilidade, simplicidade e rapidez do teste assim como a necessidade de pequena quantidade de amostra. Por ser uma bactéria marinha, a necessidade de se ajustar a osmolaridade das amostras pode ser citada como uma desvantagem do teste, pois a adição de cloreto de sódio ou sacarose para este fim pode causar variações na toxicidade de alguns compostos e dificultar as comparações dos resultados obtidos com outros organismos de água doce. Além disso, existem controvérsias e limitações sobre o uso de ensaios com pouca relevância ecológica, como é o caso dos testes com

bactérias, por não retratar os impactos causados diretamente à biota, porém o teste de toxicidade com *V. fischeri* tem sido empregado com sucesso como ferramenta de controle de contaminação ambiental em diferentes partes do mundo (AZUR ENVIRONMENTAL, 1999; BETTINARDI, 2009; ENVIRONMENT CANADA, 1992; UMBUZEIRO & RODRIGUES, 2004).

Segundo DOHERTY (2001), as conclusões obtidas em vários estudos utilizando *V. fischeri* apoiam a sua inclusão em baterias de testes ambientais, com base em uma variedade de fatores, incluindo sensibilidade a uma gama de substâncias químicas, boa correlação com os demais dados obtidos em outras análises, rapidez e baixo custo. Desde a publicação do primeiro estudo usando o teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* para a avaliação da contaminação dos sedimentos (PLOTKIN & RAM, 1984 apud DOHERTY, 2001), tem havido um aumento constante de estudos e publicações em todo o mundo com este objetivo.

A avaliação da toxicidade de sedimentos com *V. fischeri* pode ser realizada utilizando várias formas de preparo da amostra, como elutriados, lixiviados, extratos orgânicos, testes na fase sólida, ou a água intersticial da amostra. No entanto, existem várias limitações e vantagens associadas com o uso de cada uma destas formas. Extração orgânica do sedimento tem a vantagem de permitir testar as substâncias orgânicas presentes na amostra que não são solúveis em água, porém as deficiências associadas com extrações orgânicas incluem a seletividade e toxicidade de solventes utilizados. Limitações associadas aos testes de fase sólida incluem interferência de espalhamento da luz devido à turbidez, absorção de luz devido à cor e perda de bactérias a partir de efeitos não associados à toxicidade da amostra. Testes com água intersticial têm a vantagem de avaliar a toxicidade desta fração do sedimento que, na maioria das vezes, está em contato direto com os organismos aquáticos, porém avalia somente os contaminantes que são solúveis em água, além de não levar em consideração os possíveis efeitos aos organismos que se alimentam do sedimento. A escolha do método de preparo é, muitas vezes, dependente dos objetivos do estudo ou das características de partição dos contaminantes de interesse na amostra (ARAGÃO & ARAÚJO, 2006; DOHERTY,

2001). No presente estudo, optou-se por utilizar a água intersticial das amostras de sedimento para a determinação da toxicidade aguda para *Vibrio fischeri*.

Segundo BETTINARDI (2009), a eficiência dos testes de toxicidade usando *V. fischeri* para o monitoramento ambiental já foi amplamente comprovada em vários estudos científicos em todo o mundo e as vantagens deste teste, como a elevada sensibilidade do micro-organismo a uma gama de contaminantes, sua boa reprodutibilidade, rapidez e simplicidade de execução, motivaram a adoção sistemática do método em vários países desenvolvidos. No Brasil, o teste de toxicidade com *V. fischeri* vem sendo cada vez mais utilizado pelos setores industriais e órgãos ambientais, sendo contemplado pelas legislações estaduais de Santa Catarina e Paraná para o lançamento de efluentes em corpos d'água e padronizado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

1.5 Avaliação da comunidade bentônica

Uma vez que as comunidades bentônicas integram todos os fatores ambientais aos quais estão expostas, a análise da estrutura destas comunidades fornece boas indicações sobre os efeitos dos poluentes associados aos sedimentos. A comunidade bentônica corresponde ao conjunto de organismos que vive todo ou parte de seu ciclo de vida nos sedimentos dos ambientes aquáticos. Os macroinvertebrados (invertebrados selecionados em rede de 0,5 mm) que compõem essa comunidade têm sido sistematicamente utilizados em redes de biomonitoramento em vários países, pois ocorrem em todo tipo de ecossistema aquático; vivem em associação íntima com o substrato, receptor final de poluentes; exibem ampla variedade de tolerância a vários graus e tipos de poluição; têm baixa capacidade de locomoção e estão continuamente sujeitos às alterações de qualidade do ambiente aquático, inserindo o componente temporal ao diagnóstico, possibilitando a avaliação em longo prazo dos efeitos de descargas regulares, intermitentes e difusas, de concentrações variáveis de poluentes e efeitos sinérgicos e antagônicos de poluentes. As amostras de sedimento coletadas são

lavadas em rede de malha de 0,5 mm e os organismos retidos são triados e classificados por espécies. De acordo com o nível de poluição ambiental, irá acontecer um processo de substituição na comunidade, no qual as populações mais sensíveis tenderão a diminuir e até desaparecer, enquanto que espécies com maior resistência persistirão no ambiente e ampliarão suas populações. Com o aumento da poluição, até essas populações mais resistentes tenderão a diminuir e até desaparecer. A avaliação da variedade de espécies e quantidade de organismos de cada espécie indicará o grau de degradação ambiental (ARAÚJO et al., 2006; CETESB, 1997, 2009).

Os organismos bentônicos podem entrar em contato com os contaminantes presentes no sedimento através de três vias principais: ingestão de partículas do sedimento, contato com as superfícies corporais ou pelas vias respiratórias. Além disso, os organismos estão expostos a todas as formas químicas de cada composto, que podem agir de várias maneiras, dependendo da via de acesso. A absorção dos metais pelos organismos depende de alguns aspectos, como a biodisponibilidade do metal, as características da interface biológica, a reatividade do metal com a interface biológica, a presença de outros cátions, que podem antagonizar ou estimular a absorção e a temperatura, que afeta a velocidade das reações químicas e biológicas. A resposta dos organismos aos contaminantes pode ser afetada, também, pelo estágio de vida e pela saúde dos mesmos e pela forma como o metal é metabolizado. Além disso, o hábito alimentar, incluindo o tipo de alimento e a taxa de alimentação, pode controlar a quantidade de contaminante à qual o organismo está exposto. É importante lembrar que os invertebrados bentônicos selecionam como alimento as partículas do sedimento com altas concentrações de matéria orgânica, que podem conter elevadas concentrações de contaminantes (ARAÚJO et al., 2006; RAINBOW & LUOMA, 2011).

1.6 Metais em organismos

Com vistas à proteção da vida aquática, mais importante que a concentração total dos contaminantes no ambiente é a sua biodisponibilidade, que é a fração da

concentração de metal total em cada um dos reservatórios, que pode ser assimilada pelos organismos. Os metais lançados nos corpos d'água nem sempre estão igualmente biodisponíveis para os organismos aquáticos. A forma mais apropriada de se medir a biodisponibilidade é determinar a concentração dos metais acumulados na biota, diretamente nos organismos-alvo expostos a estes contaminantes presentes na água e sedimento (AMADO-FILHO et al., 2008; BORGMAN, 2003; DORNFELD, 2002). Segundo RAINBOW (2002), todos os invertebrados aquáticos acumulam metais em seus tecidos, sejam estes metais essenciais ou não para o metabolismo dos invertebrados. Os diferentes invertebrados acumulam metais traço em diferentes concentrações em seus tecidos, órgãos e em seus corpos. Desta forma, podem ser encontradas concentrações corporais de metais traço muito diferentes entre os invertebrados aquáticos que vivem no mesmo habitat. Portanto, torna-se essencial utilizar diversos organismos para avaliar a contaminação do ambiente (AMADO-FILHO et al., 2008).

Os macroinvertebrados bentônicos representam uma fonte concentrada de metais que podem ser tóxicos na dieta de peixe (WOODWARD et al., 1994, 1995 apud FARAG et al., 1998). Os organismos bentônicos ocupam diferentes nichos e possuem diferentes formas de se alimentarem, portanto o comportamento alimentar pode determinar as doses de metais absorvida por cada organismo. As espécies que vivem entocadas em sedimentos contaminados e que se alimentam de materiais detríticos contaminados, usualmente possuem maiores concentrações de metais do que as espécies que vivem em natação livre (FARAG et al., 1998).

1.7 Revisão bibliográfica

FARAG et al. (1998), em um estudo realizado na bacia do Rio Coeur d'Alene, no estado de Idaho, EUA, determinaram a concentração dos elementos As, Cd, Cu, Pb, Hg e Zn nos sedimentos, biofilme (camada de material abiótico e biótico presente sobre as superfícies de rochas e sedimentos), macroinvertebrados bentônicos e peixes com o objetivo de caracterizar o caminho da transferência dos metais entre estes componentes. Os autores encontraram maior concentração dos

metais estudados nos sedimentos e no biofilme, seguidos pelos invertebrados bentônicos e, por último, nos peixes. Observaram, também, que os invertebrados que vivem entocadas em sedimentos contaminados e que se alimentam do biofilme contaminado, possuíam maiores concentrações de metais do que as espécies que vivem em natação livre.

CLEMENTS et al. (2000) estudando 73 riachos da região das Montanhas Rochosas no estado do Colorado, EUA, região impactada por atividades de mineração, determinou a concentração dos elementos Al, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn na água, correlacionando com a comunidade bentônica local. Os autores observaram que o aumento nas concentrações de metais na água dos riachos estava diretamente relacionado com a diminuição na abundância dos macroinvertebrados na maioria das medidas realizadas e com a diminuição na riqueza das espécies em todas as medidas. Além disso, os maiores efeitos foram observados sobre várias espécies de ephemeroptera, que demonstraram ser altamente sensíveis a metais pesados e foram reduzidas em mais de 75% nos riachos moderadamente poluídos por metais.

BORGMANN et al. (2001) avaliaram a toxicidade e a bioacumulação do Ni para *Hyalella azteca* utilizando sedimentos de diferentes composições enriquecidos com diferentes concentrações de Ni. Os autores observaram que tanto a toxicidade quanto a bioacumulação foram altamente afetadas pela composição dos sedimentos. Observaram também que a determinação da concentração do metal no organismo fornece previsões muito mais confiáveis a respeito da toxicidade do níquel presente no sedimento que a determinação da concentração do metal diretamente no sedimento.

FUNG et al. (2004), com o objetivo de avaliar a contaminação das águas marinhas por metais e alguns compostos orgânicos, provenientes das indústrias instaladas ao longo da costa leste da China, utilizaram duas espécies de mexilhões, *Perna viridis* e *Mytilus edulis*, como biomonitores. Os tecidos de mexilhões foram analisados para os metais Ag, As, Cd, Cr, Ni, Pb, Se, Zn, Cu, Fe e Hg. Os autores encontraram as seguintes concentrações máximas destes elementos nos tecidos dos mexilhões: 0,14; 26,76; 5,31; 15,72; 4,78; 2,93; 7,40; 231,0; 54,17; 1002 e 317,3

mg g⁻¹ de peso seco, respectivamente. Os resultados deste estudo indicaram que os níveis de contaminantes foram, em geral, superiores ou, pelo menos, comparáveis aos relatados em outros estudos locais ou regionais.

Em um estudo semelhante, LIU et al. (2007), estudaram a concentração residual dos elementos As, Cd, Pb e Hg, além de alguns micropoluentes orgânicos em tecidos de mexilhões de áreas costeiras do Mar de Bohai, norte da China. Os resultados da pesquisa indicaram o Cd como o principal contaminante presente nos tecidos dos mexilhões coletados na área estudada, enquanto os elementos As, Hg e Pb foram encontrados em maiores concentrações em apenas um ponto estudado.

AMADO-FILHO et al. (2008), estudou as concentrações dos metais Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn em quatro espécies de organismos bentônicos, sendo duas algas, *Padina gymnospora* e *Sargassum sp.*; uma grama marinha, *Halodule wrightii*, e uma ostra, *Crassostrea rhizophorae*, da Baía de Todos os Santos, estado da Bahia, Brasil, região impactada por atividades antrópicas. O autor obteve altas concentrações dos metais nos organismos estudados e também sugeriu que, pelos resultados obtidos, o cádmio e o cobre estavam biodisponíveis a partir das partículas de sedimento em suspensão, fração dissolvida da coluna d'água e da água intersticial do sedimento de fundo.

1.8 Objetivos

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo dos níveis de concentração e da distribuição das espécies metálicas As, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb na água, sedimento e nos organismos aquáticos dos rios e reservatórios pertencentes à Rede de Monitoramento de água e sedimento da CETESB. Além disso, este estudo visou avaliar a toxicidade da água e sedimento dos rios e reservatórios para a bactéria *Vibrio fischeri* e para a comunidade bentônica local.

1.8.1 Objetivos específicos

a) Desenvolvimento e validação de metodologias para a determinação das espécies metálicas As, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb em organismos aquáticos utilizando a técnica de GF AAS;

b) Determinação de As e dos metais Cd e Pb por GF AAS em sedimentos;

c) Determinação dos metais Cr, Cu e Ni por ICP OES em sedimentos;

d) Caracterização multielementar (concentração total) dos sedimentos por análise por ativação neutrônica (NAA).

CAPÍTULO 2 – TÉCNICAS ANALÍTICAS

2.1 Determinação de metais

A determinação e quantificação das espécies Cr, Cu e Ni nas amostras de água e sedimento foram realizadas utilizando a técnica de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES – do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry). A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS – do inglês, Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry) foi utilizada para a determinação e quantificação das espécies As, Cd e Pb nas amostras de água e sedimento e das espécies As, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb, nas amostras de organismos bentônicos.

2.1.1 Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

A ICP OES é uma técnica largamente usada, que permite identificar e quantificar elementos traço em amostras de interesse ambiental, como sedimentos, águas naturais e residuárias, solos, lodos domésticos e industriais, amostras biológicas, como peixes, ostras, plantas, entre outras. É uma técnica multielementar robusta que oferece a possibilidade de determinações sequenciais rápidas ou simultâneas de uma gama de elementos. Atualmente mais de 70 elementos podem ser determinados por ICP OES com baixos limites de detecção (QUINÁGLIA, 2006).

A técnica de ICP OES (Figura 2.1) aplica-se a uma grande faixa de metais, incluindo os chamados refratários. As altas temperaturas geradas fornecem

excelente sensibilidade para muitos elementos, eliminando interferências químicas. Genericamente, os limites de detecção estão na faixa de concentração entre os fornecidos pelo GF AAS e FAAS (Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Chama). Entretanto, a amostra necessita de digestão ácida assistida por aquecimento, para extração e solubilização dos elementos potencialmente extraíveis, ou disponíveis para o ambiente (BOSTELMANN, 2006).



Figura 2.1 – Modelo de ICP OES (figura cedida por Gilson A. Quinágua)

A técnica de ICP OES baseia-se na emissão ótica de átomos excitados do elemento em estudo. Como fonte de excitação utiliza-se plasma de argônio (Figura 2.2). O plasma, por definição, é um gás parcialmente ionizado, que fornece altas temperaturas (5500 a 10000 K) e alta densidade eletrônica (1 a 3×10^{15} e cm^{-3}), com energia suficiente para quebrar as ligações e ionizar a maioria dos elementos metálicos e alguns não metálicos. O plasma é formado pela ação de um campo magnético sobre o argônio, gerado por uma bobina de indução, acoplada a um gerador de radiofrequência, na tocha. A tocha é formada por tubos concêntricos, com fluxo de argônio independente (BOSTELMANN, 2006; KRUG et al., 2005).



Figura 2.2 – Tocha de plasma (figura cedida por Gilson A. Quinágua)

A amostra líquida (ou o digerido da amostra) é transformada em um aerossol no processo de nebulização e então é introduzida no tubo central da tocha do plasma, onde ocorrem os processos de dessolvatação, vaporização, dissociação, atomização, excitação e/ou ionização dos analitos presentes na amostra. A alta temperatura da fonte de excitação eleva os átomos do analito a altos níveis de energia que, ao retornar aos níveis mais baixos, emitem essa energia como fótons. A radiação é detectada e transformada em sinais eletrônicos que são convertidos em informações de concentração. Os comprimentos de onda desses fótons emitidos são característicos para cada elemento e a intensidade da emissão é proporcional à quantidade de átomos do analito presente na amostra. É uma técnica que possui uma capacidade multielementar sequencial rápida ou simultânea, com alta sensibilidade, permitindo uma grande versatilidade analítica (NORDBERG et al., 2007; QUINÁGLIA, 2006; SANTOS et al., 2002; SARKAR, 2002).

2.1.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite (GF AAS)

A técnica de GF AAS (Figura 2.3) baseia-se na absorção da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte específica de radiação (lâmpada) por átomos gasosos do analito no estado fundamental. Uma pequena quantidade da amostra é inserida, por meio de um amostrador, no interior de um tubo de grafite

que, ao sofrer aquecimento eletrotérmico, promove a secagem, a eliminação da matriz (pirólise) e a atomização do analito, quando os átomos metálicos são excitados. Quando a energia proveniente da lâmpada passa pela nuvem atômica, os átomos absorvem parte desta energia, passando do estado fundamental para estados de níveis energéticos mais elevados. Um detector é utilizado para medir a quantidade de energia absorvida pelos átomos do analito, através da diferença entre a quantidade de energia emitida pela lâmpada e aquela que chega ao detector. A concentração do analito presente na amostra é proporcional à energia absorvida. A quantificação do metal se dá com a comparação do sinal analítico obtido na leitura da amostra, com uma curva analítica. A alta especificidade, seletividade, facilidade de operação, necessidade de pequena quantidade da amostra, baixos limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1}) e baixo custo em relação a outras técnicas são as grandes vantagens da GF AAS (CORREIA & OLIVEIRA, 2005; NORDBERG et al., 2007; SARKAR, 2002).



Figura 2.3 – Modelo de GF AAS (QUINÁGLIA, 2006)

O espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite deve possuir alguns componentes básicos (Figura 2.4), como: fonte de radiação (lâmpada de cátodo oco ou descarga sem eletrodo); forno de grafite (para gerar átomos neutros); sistema óptico para decompor a radiação e isolar o comprimento de onda de interesse (monocromador ou policromador); detector (dispositivo que transforme a

radiação não atenuada em termos de concentração para o analista). Além disso, o uso de amostradores automáticos e softwares sofisticados permite uma melhor aquisição de dados e controle inteligente de todo processo, o que faz da GF AAS uma das técnicas mais automatizadas em relação às demais (QUINÁGLIA, 2006).

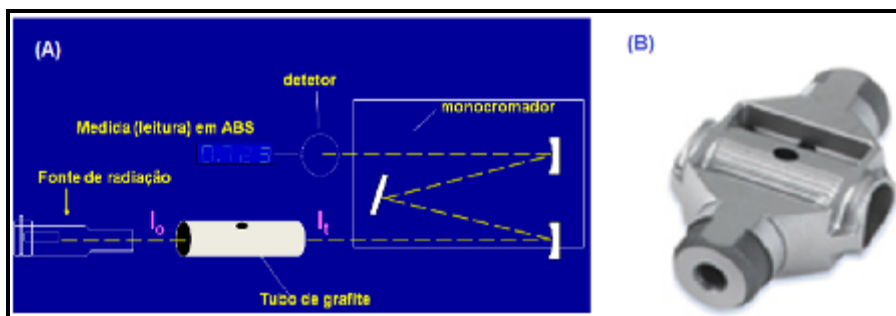


Figura 2.4 – (A) Esquema de um GF AAS; (B) Tubo de grafite (figura cedida por Gilson A. Quinágua)

2.2 Caracterização multielementar dos sedimentos – técnica de INAA

No presente estudo, a caracterização multielementar nos sedimentos foi realizada utilizando a técnica de Análise Instrumental por Ativação Neutrônica (INAA). Realizou-se a determinação e quantificação de metais (Cr, Zn), elementos maiores (Ca, Fe, Na), elementos traço (As, Ba, Br, Co, Cr, Cs, Hf, Rb, Sb, Sc, Ta, Th e U) e elementos terras raras (ETR) (La, Ce, Eu, Nd, Sm, Lu, Tb, Yb).

2.2.1 Análise Instrumental por Ativação Neutrônica (INAA)

A INAA é um método de detecção multielementar com alta sensibilidade e confiabilidade. É uma técnica analítica não destrutiva que se baseia no bombardeamento da amostra com nêutrons, convertendo os núcleos estáveis dos átomos dos analitos em núcleos radioativos. Ao sofrer decaimento, os átomos emitem quantidade de radiação característica para cada elemento (Figura 2.5). A quantificação é baseada na medida da intensidade da radiação. A radioatividade é

proporcional ao número de núcleos alvos do analito na amostra irradiada. Como vantagens dessa técnica, pode-se citar a necessidade de um pequeno, ou até nenhum pré-tratamento da amostra, baixíssimo limite de detecção, além do fato de que o perigo de contaminação e perda dos analitos na amostra serem praticamente eliminados (GREENBERG et al., 2011; NORDBERG et al., 2007; SARKAR, 2002).

A análise por ativação com nêutrons foi descoberta em 1936, sendo bastante utilizada para análises multielementares em diferentes áreas, como arqueologia, biomedicina, toxicologia, bioquímica, análises ambientais, forenses, produtos industriais, geologia e análises de solo em geral. É aplicada com grandes vantagens em relação a outras técnicas em matrizes específicas, tais quais: materiais sólidos de difícil solubilização, como solos, rochas, minerais, ligas metálicas, entre outros; materiais sólidos que podem ser facilmente contaminados durante a preparação, como substâncias ultrapuras (material semicondutor, fibra de carbono), quantidades muito pequenas da amostra, tecidos e fluidos biológicos; amostras sólidas únicas ou que necessitam manter sua integridade, como amostras forenses, objetos arqueológicos ou culturais (GLASCOCK, 2010; GREENBERG et al., 2011).

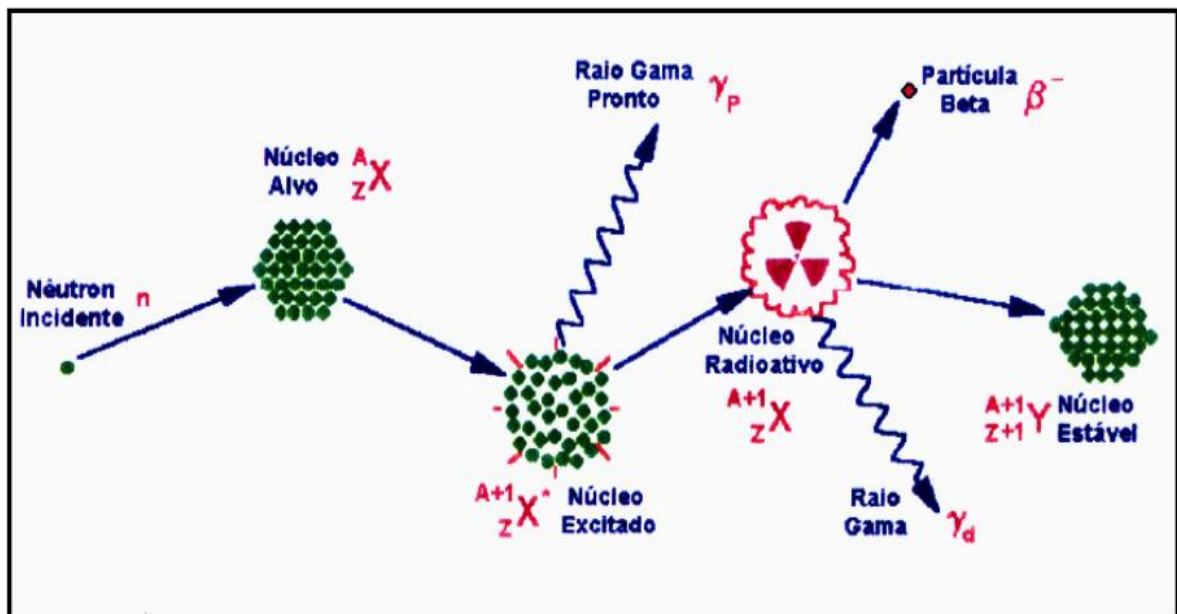


Figura 2.5 – Representação esquemática da interação do nêutron com um núcleo (BOSTELMANN, 2006)

A INAA é um dos métodos mais importantes dentre os disponíveis para a análise de traços. A sua principal vantagem é a capacidade de determinação simultânea de muitos elementos com alta sensibilidade, sendo possível a determinação em níveis de ng g^{-1} até %, com exatidão e precisão. Possui também alta especificidade (habilidade de correlacionar diretamente e de forma não ambígua o sinal obtido com o elemento analisado) e seletividade (possibilidade de medir o elemento em questão na presença de outros elementos que emitem sinais da mesma natureza). No caso da INAA comparativa, a amostra é irradiada juntamente com um padrão, cuja composição é a mais similar possível, nas mesmas condições. Após a irradiação, amostra e padrão são medidos no mesmo detector, o que permite que as massas desconhecidas dos elementos de interesse possam ser diretamente calculadas a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão, conhecendo-se as massas de ambos (BOSTELMANN, 2006).

A concentração dos elementos presentes na amostra é obtida pela comparação das áreas dos picos referentes ao analito presente na amostra e nos padrões, que são ativados juntamente com as amostras, utilizando-se para o cálculo a seguinte expressão (2.1):

$$C_a^i = \frac{(A_a^i m_p C_p^i) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_p^i m_a}$$

(2.1)

onde:

C_a^i : Concentração do elemento i na amostra

C_p^i : Concentração do elemento i no padrão

A_a^i : Atividade do elemento i na amostra

A_p^i : Atividade do elemento i no padrão

m_a e m_p : massas da amostra e padrão, respectivamente

λ : constante de decaimento do radioisótopo

t_a : tempo de resfriamento da amostra

t_p : tempo de resfriamento do padrão

2.2.1.1. Tendências atuais da NAA

É de consenso geral que a técnica de INAA é uma técnica madura, com princípios do método bem entendidos e que quase não existem aspectos fundamentais do método que impliquem em desenvolvimento adicional e inovação que possam alterar significativamente o papel da INAA (IAEA, 2001).

Uma das tendências que podem ser encontradas na literatura recente é que os laboratórios químicos estão fazendo uso de outros métodos de análises complementares à INAA, que ampliam o conteúdo de informação em seus estudos de interesse. Por exemplo, a AAS (espectrometria de absorção atômica) oferece a oportunidade de obtenção de dados para Pb, elemento de interesse em estudos ambientais. Da mesma forma, a AAS e ICP OES são técnicas mais apropriadas para análise de águas, mas são complementares novamente se NAA instrumental é aplicada para estudos de sedimentos.

Um novo segmento de mercado, com crescimento rápido em muitos países, é a metrologia em medidas químicas. Como já mencionado anteriormente, a NAA tem sido largamente usada em muitos países na caracterização de materiais candidatos a materiais de referência. Atualmente, há uma tendência de se estabelecer laboratórios nacionais de referência para metrologia em química. A NAA pode desempenhar um papel importante nesse caso, não somente no desenvolvimento de materiais de referência, mas também para a verificação dos métodos de referência e para validação de outros métodos de análise multielementar.

GREENBERG et al. (2011) publicaram um artigo, recentemente, afirmando que o método de NAA comparativo, apresentava todos os requisitos para ser considerado como método primário conforme definição do “Comité Consultatif pour La Quantité de Matière – Metrologie en Chimie” (CCQM). A tese dos autores é evidenciada nesse artigo em 3 capítulos, onde foram discutidos todos os requisitos

para que um método fosse considerado primário. Os autores discutem que a performance da NAA em exercícios de intercomparação do CCQM no período de 2000 a 2007, é semelhante ao do método de Espectrometria de Massa com Diluição Isotópica (ID-MS), já considerado como método primário pelo CCQM.

2.3 Testes de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* em água e sedimento

A toxicidade das amostras de água e da água intersticial das amostras de sedimento foi determinada utilizando o teste de toxicidade aguda para a bactéria *Vibrio fischeri*. O sistema de teste é baseado na medição da luminescência emitida pelas bactérias *Vibrio fischeri* após exposição a uma amostra por um período de 5, 15 ou 30 minutos. A intensidade da luz emitida pelas bactérias quando em contato com a amostra é comparada com a de um controle, onde a amostra é substituída pelo diluente. Quando entram em contato com substâncias tóxicas presentes na amostra, capazes de interferir na produção de energia, as bactérias diminuem ou cessam a emissão de luz. Geralmente o sistema de teste é executado em aparelhos específicos, compostos por um luminômetro de precisão com unidade integrada de medição e comando e um termobloco com temperatura controlada, de 15 ± 1 °C, que pode ser embutido no luminômetro ou ser uma unidade independente. O teste é preparado e executado no termobloco, utilizando cubetas de vidro borossilicato apropriadas para o teste. Todos os procedimentos de execução do ensaio, tais como a sequência de colocação da amostra, tempo de incubação, leituras e cálculo dos resultados são gerenciados por software específico. Na Figura 2.6 está apresentado um modelo de sistema analisador de toxicidade com *Vibrio fischeri* e uma cubeta de vidro utilizada nos testes.



Figura 2.6 – Sistema analisador de toxicidade e cubeta de vidro (Foto: Wálace A. A. Soares)

Para a realização do teste, culturas liofilizadas contendo aproximadamente 10^8 bactérias, mantidas entre -20 e -25 °C, são reconstituídas com solução apropriada. Após a ressuspensão, alíquotas contendo aproximadamente 10^6 células são distribuídas nas cubetas e realizada a primeira medida da emissão de luz da bactéria. Após esta etapa, são adicionadas às cubetas contendo a suspensão bacteriana, a amostra a ser testada, ou diluições desta, e diluente, utilizado como controle negativo. Após intervalos de tempo de 5 e 15 minutos de contato, são feitas novas medidas da quantidade de luz emitida pela bactéria (Figura 2.7).

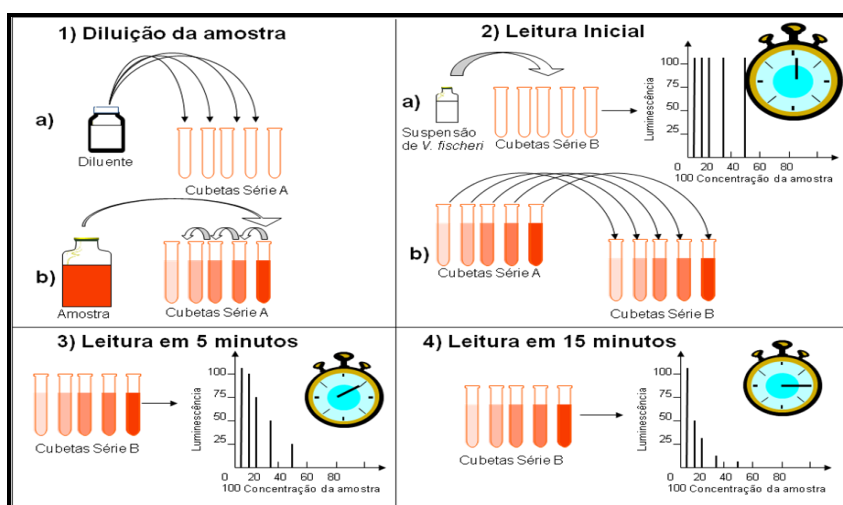


Figura 2.7 – Esquema do teste (figura cedida por Paulo Fernando Rodrigues)

Considera-se uma amostra positiva quando a maior concentração testada da amostra apresenta porcentagem de inibição da emissão de luz de 20%. Os resultados são expressos, usualmente, em porcentagem de inibição da luminescência, CE20 (concentração da amostra testada que causa 20% de diminuição na emissão de luz), CE50 (concentração da amostra testada que causa 50% de diminuição na emissão de luz), fator de toxicidade (FT), unidade tóxica (UT), após 5 ou 15 minutos de exposição à temperatura de 15 °C. Como validação do teste, é realizado um controle positivo, ou seja, é testada uma substância de toxicidade conhecida para a bactéria. Como controle positivo pode-se utilizar uma solução de sulfato de zinco heptaidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) ou fenol (C_6H_5OH) (AZUR ENVIRONMENTAL, 1999; ENVIRONMENT CANADA, 1992; KNIE & LOPES, 2004; UMBUZEIRO & RODRIGUES, 2004).

2.4 Avaliação da comunidade bentônica

O biomonitoramento pode ser a forma mais adequada de avaliar os efeitos da contaminação sobre a biota de um corpo d'água específico, pois os constituintes da comunidade residente nestes ambientes são os monitores naturais de sua qualidade. A comunidade dos organismos bentônicos é formada por todos os organismos que habitam o fundo dos ecossistemas aquáticos, vivendo enterrados ou sobre o substrato, permanecendo estáticos ou em movimento. Incluem fungos, bactérias, algas, plantas aquáticas superiores, animais invertebrados e vertebrados. Os macroinvertebrados bentônicos têm sido sistematicamente utilizados em redes de biomonitoramento em vários países, pois ocorrem em todo tipo de ecossistema aquático; vivem em associação íntima com o substrato, receptor final de poluentes; exibem ampla variedade de tolerância a vários graus e tipos de poluição; têm baixa capacidade de locomoção e estão continuamente sujeitos às alterações de qualidade do ambiente aquático, inserindo o componente temporal ao diagnóstico, possibilitando a avaliação em longo prazo dos efeitos de descargas regulares, intermitentes e difusas, de concentrações variáveis de poluentes e efeitos sinérgicos e antagônicos de poluentes. A comunidade dos macroinvertebrados bentônicos compreende os animais invertebrados retidos em peneira com abertura

de malha de 0,5 mm, que vivem pelo menos parte de suas vidas no ambiente aquático bentônico e se compõem principalmente de vermes anelídeos, moluscos, crustáceos e larvas e ninfas de insetos (Figura 2.8). São membros importantes da cadeia alimentar e têm papel funcional nos ecossistemas aquáticos ao participarem dos processos de decomposição e ciclagem de nutrientes (CETESB, 1997, 2003, 2007, 2009).



Figura 2.8 – Exemplos de organismos bentônicos (Fotos: Wálace A. A. Soares)

Na avaliação da comunidade bentônica de um ambiente, as amostras de sedimento coletadas são preservadas com formol em campo e ao chegarem ao laboratório são lavadas em rede de malha de 0,5 mm e os organismos retidos são triados, identificados, classificados por espécies e contados os indivíduos, para o cálculo dos índices utilizados no diagnóstico da qualidade dos ambientes aquáticos (CETESB, 2003, 2006).

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Definição dos pontos de amostragem

A escolha dos pontos de amostragem foi definido juntamente com os Setores de Análises Toxicológicas, de Comunidades Aquáticas e de Amostragem da CETESB. Os locais de estudo foram definidos como sendo os pontos da Rede de Monitoramento de Sedimentos em rios e reservatórios onde são realizadas as avaliações da comunidade bentônica. Para o ano de 2011, dos 24 pontos de amostragem pertencentes à Rede, 12 foram definidos pela CETESB para a realização do estudo da comunidade bentônica, distribuídos igualmente entre UGRHIs pertencentes às quatro vocações (conservação, agropecuária, em industrialização e industrial) definidas pela Lei Estadual nº 9.034 de 1994 – Plano Estadual de Recursos Hídricos. Embora haja uma pequena variação no número de pontos, este é o procedimento adotado anualmente pela CETESB. Além destes 12 pontos, também foi escolhido para o estudo o Reservatório de Salto Grande, localizado na cidade de Americana, UGRHI 5 (industrial). O interesse em estudar este reservatório é devido à constante piora na qualidade das águas observada nos últimos anos, segundo análises realizadas pela própria CETESB. Na Tabela 3.1 estão descritos os pontos de amostragem, a sua localização, suas coordenadas geográficas e as datas de coleta. Nas Figuras 3.1 a 3.11 são apresentados os locais de coleta nos corpos d'água inseridos nas respectivas UGRHIs.

Além da avaliação da comunidade bentônica, em cada ponto amostrado foi realizada também a determinação da concentração dos metais na água e sedimento, teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* na água e na água intersticial do sedimento e determinação da concentração dos metais nos macroinvertebrados bentônicos coletados.

Tabela 3.1 Descrição dos pontos de amostragem, localização e data de coleta

	Código do ponto	UGRHI	Corpo hídrico	Local	Lat S Long W	Data da coleta	
Rios	LENS3900	13	Rio Lençóis	1 km da foz com o rio Tietê	22 30 15 48 30 15	30/08/2011	
	PARD2590	4	Rio Pardo	2 km a montante da ponte da rodovia que liga Pontal a Cândia	20 58 41 48 00 56	25/08/2011	
	PRET2600	15	Rio Preto	A montante da ponte da estrada que liga o distrito de Ibiporanga (Tanabi) à Palestina, na Fazenda Boa Sorte	20 26 36 49 32 36	24/08/2011	
	RIBE2650	11	Rio Ribeira	Próximo da balsa para o bairro de Pilões, em Poço Grande	24 32 47 48 29 58	27/09/2011	
	RIJU2800	3	Rio Juqueriquerê	A montante da ETE da Sabesp	23 41 16 45 27 18	14/09/2011	
	SAGU2150	1	Rio Sapucaí Guaçú	Próximo da ponte do bairro de Descansópolis	22 41 56 45 31 32	13/09/2011	
	SJDO2150	18	Rio São José dos Dourados	Próximo à ponte da estrada de terra de Duas Pontes, a jusante da ETE de Monte Aprazível	20 43 02 49 46 00	24/08/2011	
	TBIR3400	20	Rio Tibiriçá	Próximo à ponte do distrito de Rosália, em Marília	21 56 42 49 57 10	31/08/2011	
	Reservatórios	ATSG2800	5	Reservatório Salto Grande	No corpo central, em frente à Praia Azul	22 43 30 47 13 49	01/06/2011
		BILL2100	6	Reservatório Billings	No meio do corpo central, na direção do braço do Bororé	23 47 11 46 38 49	06/07/2011
JARI0800		5	Reservatório Jaguari	No corpo central, em frente à ilha	22 55 40 46 25 27	28/07/2011	
MOCA2300		9	Reservatório Cachoeira de Cima	Cerca de 1,5 km a montante da barragem, no meio do reservatório	22 22 44 46 53 42	18/08/2011	
RGDE2900		6	Reservatório Rio Grande	No corpo central, a 2 km da barragem, em frente ao clube do Banespa	23 46 40 46 30 42	27/07/2011	

UGRHI – Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos



Figura 3.1 – Rio Lençóis (LENS3900 - UGRHI 13)

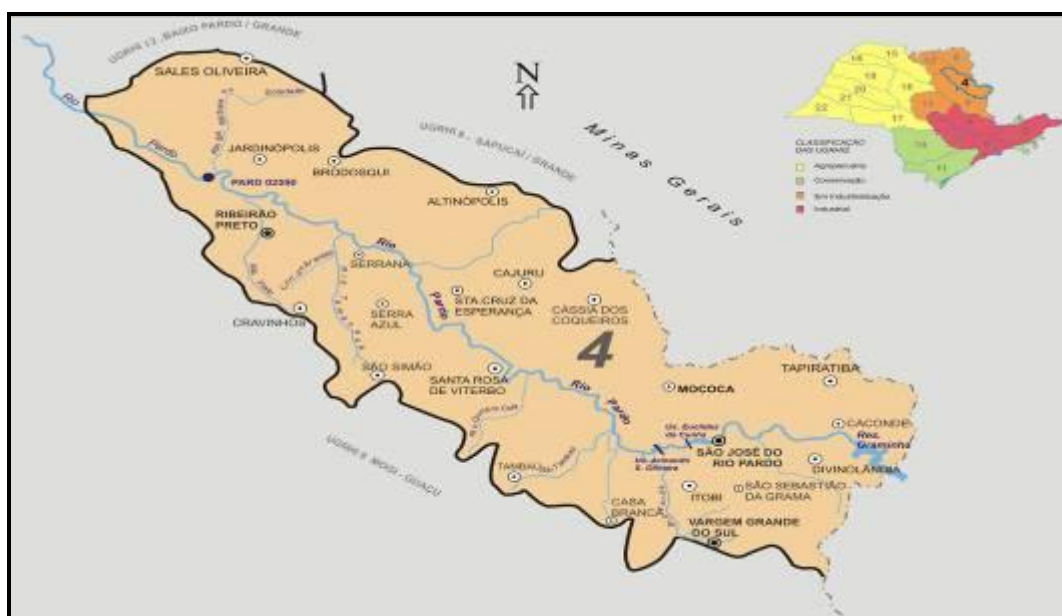


Figura 3.2 – Rio Pardo (PARD2590 - UGRHI 4)



Figura 3.3 – Rio Preto (PRET2600 - UGRHI 15)

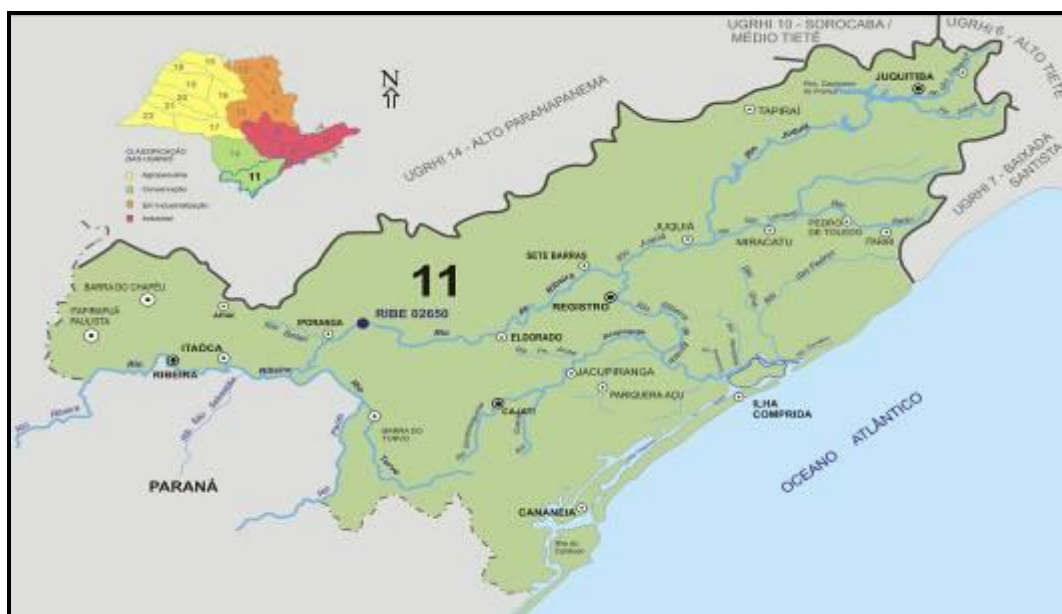


Figura 3.4 – Rio Ribeira (RIBE2650 - UGRHI 11)



Figura 3.5 – Rio Juqueriquerê (RIJU2800 - UGRHI 3)

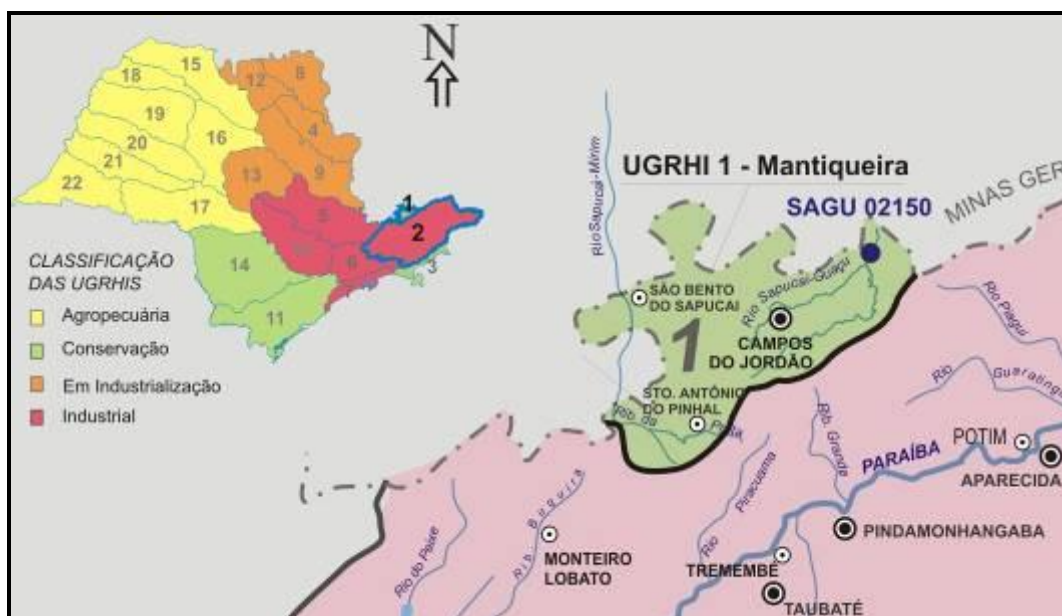


Figura 3.6 – Rio Sapucaí-Guaçu (SAGU2150 - UGRHI 1)

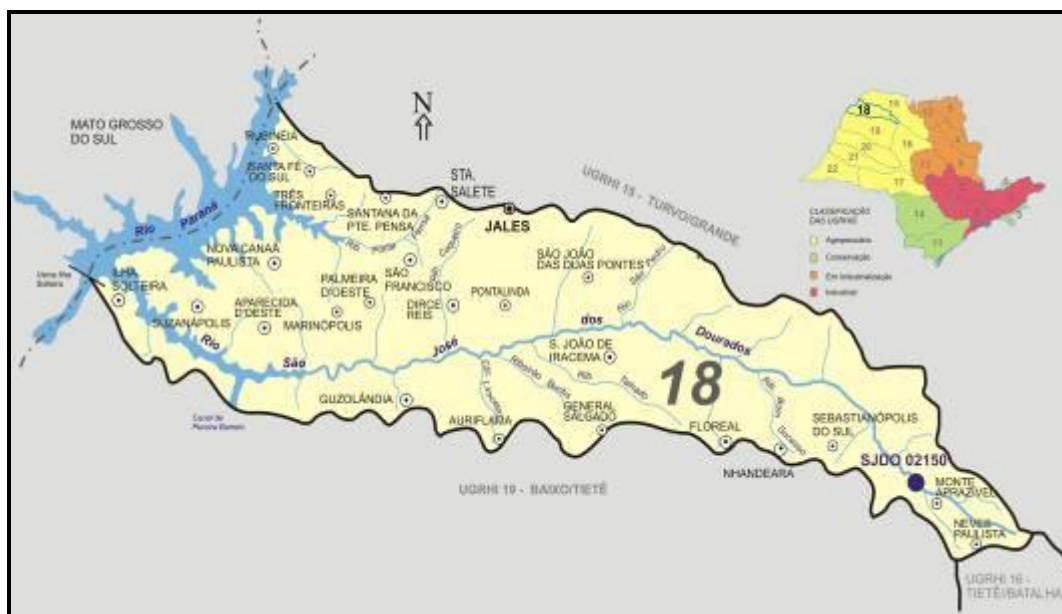


Figura 3.7 – Rio São José dos Dourados (SJDO2150 - UGRHI 18)

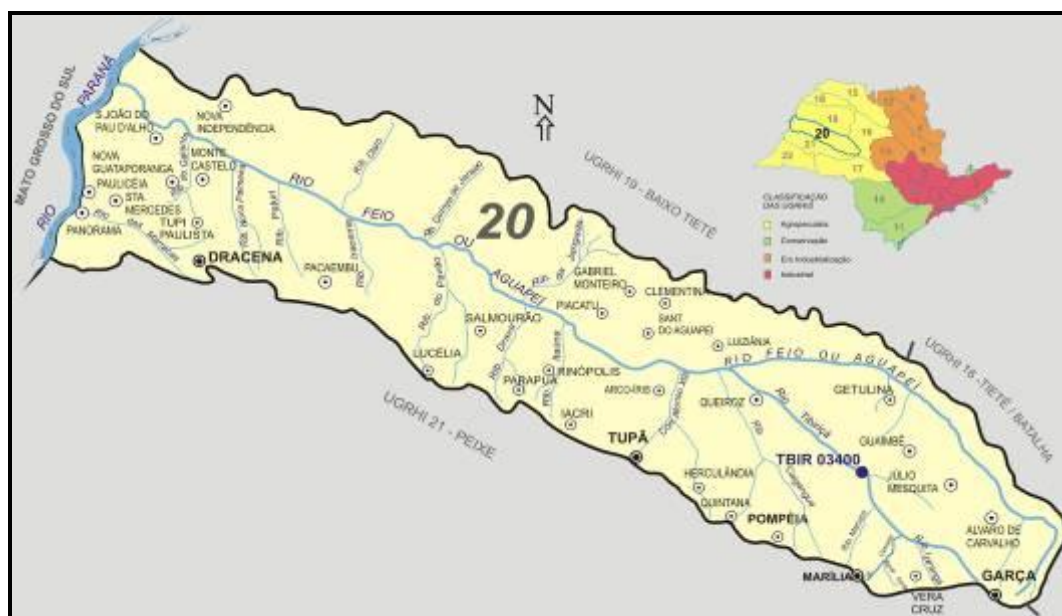


Figura 3.8 – Rio Tibiriçá (TBIR3400 - UGRHI 20)



Figura 3.9 – Reservatórios Salto Grande (ATSG2800) e Jaguari (JARI0800 - UGRHI 5)

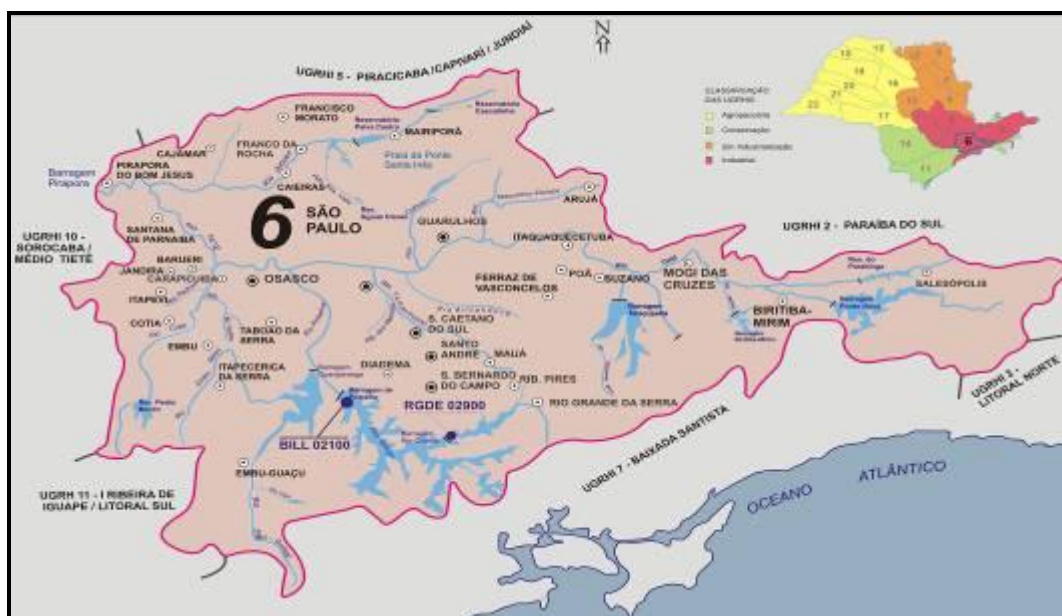


Figura 3.10 – Reservatórios Billings (BILL2100) e Rio Grande (RGDE2900 - UGRHI 6)



Figura 3.11 – Reservatório Cachoeira de Cima (MOCA2300 - UGRHI 9)

3.2 Coleta das amostras

As coletas foram realizadas em conjunto com os Setores de Amostragem e, no caso dos macroinvertebrados bentônicos, de Comunidades Aquáticas da CETESB, seguindo os procedimentos utilizados pelo Setor de Amostragem. Estes procedimentos também estão descritos no Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos, editado pela CETESB e pela ANA (Agência Nacional de Águas) (CETESB, 2011).

3.2.1 Coleta de amostras de água para metais e *Vibrio fischeri*

As amostras de água foram coletadas utilizando balde de aço inoxidável e armazenadas em frascos de polietileno, previamente descontaminados, para determinação de metais e de toxicidade aguda com *V. fischeri* (Figura 3.12). Para determinação de metais, as amostras foram preservadas pela adição de ácido nítrico (HNO_3) e armazenadas sob-refrigeração. Para o *V. fischeri* não há a

necessidade de preservação química, apenas refrigeração durante o transporte. Ao chegar ao laboratório, foram armazenadas sob congelamento.



Figura 3.12 – Coleta de amostra de água (CETESB, 2011)

3.2.2 Coleta de amostras de sedimento para metais e *Vibrio fischeri*

As amostras de sedimento foram coletadas utilizando-se pegador de superfície tipo van Veen e transferidas para uma bandeja de polietileno. Foram coletados os organismos para determinação de metais (item 3.2.4) e, em seguida, o sedimento foi homogeneizado com o auxílio de uma pá de polietileno e armazenado em frascos de polietileno, sob-refrigeração, para determinação de metais e de toxicidade aguda com *V. fischeri* (Figura 3.13).



Figura 3.13 – Coleta de amostra de sedimento (CETESB, 2011)

3.2.3 Coleta de amostras de sedimento para avaliação da comunidade bentônica

As amostras de sedimento para avaliação da comunidade bentônica foram coletadas em triplicata, com pegadores do tipo van Veen na margem deposicional dos rios e na região sublitoral de reservatórios e Ekman-Birge, na região profunda dos reservatórios. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos, preservadas com formol e transportadas até o laboratório, onde foram lavadas em rede de malha de 0,50 mm para retenção dos organismos, os quais foram então separados e identificados (Figura 3.14).



Figura 3.14 – Amostra de bentos (figura cedida por Mônica L. Kuhlmann)

3.2.4 Coleta de amostras de organismos bentônicos para determinação de metais

No momento da coleta de sedimento para a determinação de metais e de toxicidade (item 3.2.2) foram coletados também os organismos bentônicos para a determinação de metais. Utilizando-se uma pinça de polietileno, separaram-se os organismos bentônicos visíveis, os quais foram armazenados em frascos plásticos contendo água do próprio local de coleta. Os organismos coletados foram enviados para o Setor de Comunidades Aquáticas da CETESB onde foram identificados e encaminhados para determinação de metais.

3.3 Preparação das amostras

3.3.1 Preparo de amostras de sedimento para determinação de metais e caracterização multielementar

Para as determinações de metais por ICP OES e por GF AAS e para a caracterização multielementar por NAA nos sedimentos é necessário realizar a secagem, maceração e peneiramento das amostras para remoção do material grosseiro (> 2 mm), geralmente composto de pedregulhos, folhas, carcaças de organismos e outros materiais que não fazem parte da constituição do sedimento. Desta forma, todo material que passa pela abertura de 2 mm é considerado como fração total do sedimento (QUINAGLIA, 2006).

As amostras de sedimento, após homogeneização, foram secas em estufa de circulação forçada a 40 °C, até massa constante e, em seguida, maceradas em almofariz e pistilo de ágata e peneiradas em malha de nylon com abertura de 2 mm, para separação da fração total (Figura 3.15). Após o peneiramento, cada amostra foi dividida em duas partes. Para a determinação de metais, uma parte da fração total de cada amostra foi armazenada em frascos de polietileno e, posteriormente, submetida à etapa de digestão ácida.

Para a caracterização por NAA, a outra parte de cada amostra foi novamente macerada em almofariz de ágata e peneirada em malha de 200 mesh, para diminuir o tamanho das partículas e obter melhor homogeneidade. Depois de peneiradas, as amostras foram armazenadas em frascos de polietileno, estando prontas para análise.



Figura 3.15 – Preparo de amostra de sedimento (QUINÁGLIA, 2006)

3.3.2 Digestão de amostras de água e sedimentos assistida por micro-ondas

As determinações de metais tanto em amostras de água quanto em amostras de sedimento pelas técnicas de ICP OES e GF AAS necessitam de digestão ácida prévia, adicionando-se ácidos minerais fortes, como HNO_3 , HCl , HF ou misturas destes à amostra, seguida de aquecimento. Na digestão de amostras por sistema convencional, o aquecimento pode ser realizado em chapa (Figura 3.16) ou manta de aquecimento, blocos digestores, entre outros. O aquecimento ocorre por correntes de convecção, de fora para dentro do frasco de reação. O procedimento é de simples execução e custo relativamente baixo, porém existem algumas limitações, como a variação na concentração dos ácidos quando são aquecidos em sistema aberto, aumento das possibilidades de contaminação, variação na temperatura dependendo do tipo de equipamento utilizado e, principalmente, a possibilidade de perda de alguns elementos voláteis durante o aquecimento.



Figura 3.16 – Aquecimento em chapa elétrica (figura cedida por Gilson A. Quinágua)

Na digestão de amostras por aquecimento induzido por micro-ondas (Figura 3.17), as amostras são digeridas em fornos (digestores), que utilizam a energia das micro-ondas para aquecimento, reduzindo o tempo de preparação e minimizando drasticamente as fontes de contaminação. A radiação eletromagnética não ionizante das micro-ondas não tem energia suficiente para romper ligações químicas, mas afeta a rotação dos dipolos elétricos e condução iônica, provocando aquecimento rápido do meio. O calor é gerado de dentro para fora da solução, ocorrendo maior rapidez no aquecimento em relação ao sistema convencional.

A digestão por forno de micro-ondas pode ser realizada com micro-ondas focalizadas ou em sistema fechado, sendo este último mais utilizado, devido às vantagens em se trabalhar com os frascos reacionais fechados, tais como: maior rapidez na digestão; minimização das fontes de contaminação; o ácido não é perdido por evaporação; temperaturas de ebulição do ácido mais elevadas, aumentando-se o poder oxidante e complexante; não há perdas dos elementos voláteis. Portanto, a digestão de amostras por micro-ondas é mais eficiente que o convencional, devido ao controle da energia fornecida às amostras (QUINÁGLIA, 2006).



Figura 3.17 – Digestor por micro-ondas (figura cedida por Gilson A. Quinágua)

Optou-se pela digestão assistida por micro-ondas, por sua eficiência, rapidez e baixa contaminação. As digestões foram realizadas em digestores marca CEM, modelo MDS 2100, utilizado ácido nítrico (HNO_3) concentrado, marca Carlo Erba, de grau analítico, para dissolução dos metais presentes nas amostras, em frascos de Teflon[®], em sistema fechado, com monitoramento de pressão nos frascos. Os métodos utilizados para a digestão das amostras foram o SW-846-3015 – USEPA (USEPA, 2007a) para amostras de água e SW-846-3051A – USEPA (USEPA, 2007b) para sedimentos. Estes métodos estão descritos a seguir.

SW-846-3015A – USEPA: transferir alíquotas de 25 mL das amostras homogeneizadas para tubos de digestão de Teflon[®]. Adicionar 2,5 mL de HNO_3 p. a. em cada tubo e deixá-los em repouso por aproximadamente 5 minutos. Fechar os tubos e levá-los à digestão assistida por micro-ondas. Ao término da programação, após resfriamento, transferir as soluções das amostras digeridas para balões volumétricos de 50 mL, aferindo o volume com água deionizada.

SW-846-3051A – USEPA: transferir alíquotas de aproximadamente 0,50 g das amostras, após secagem, maceração e peneiramento, para tubos de digestão de Teflon[®]. Adicionar 10 mL de HNO_3 p. a. em cada tubo. Fechar os tubos e levá-los à digestão assistida por micro-ondas. Ao término da programação, após resfriamento, transferir as soluções das amostras digeridas, sob filtração, para balões volumétricos de 50 mL, aferindo o volume com água deionizada.

3.3.3 Preparo de amostras de sedimento para o teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

Para a avaliação da toxicidade das amostras de sedimento o teste de toxicidade aguda com *V. fischeri* foi realizado na água intersticial. A água intersticial é considerada o meio e uma das rotas principais pelo qual a toxicidade de um contaminante se manifesta a diversos organismos aquáticos (CETESB, 2012). A água intersticial das amostras de sedimento foi extraída por centrifugação, segundo método descrito na norma ABNT NBR 15469 Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras (ABNT, 2007). A amostra de sedimento foi homogeneizada em uma bandeja de polietileno, utilizando uma colher de aço inoxidável e centrifugada em centrífuga marca Eppendorf, modelo 5430, a uma velocidade de 2000 x g por 30 minutos, em tubos de vidro borossilicato. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para outro tubo de vidro borossilicato e enviado para a realização do teste de toxicidade com *V. fischeri*.

3.3.4 Preparo das amostras de invertebrados bentônicos para determinação de metais por GF AAS

Os organismos coletados e armazenados em frascos plásticos contendo água do próprio local de coleta foram identificados pelo Setor de Comunidades Aquáticas da CETESB e encaminhados para determinação de metais. Cada indivíduo foi lavado com água destilada, seco com papel absorvente, transferido para microtubo de polipropileno previamente tarado e teve sua massa medida em balança analítica. Os organismos foram então armazenados, sob congelamento, até o momento das determinações.

No momento da determinação, cada organismo foi dissolvido utilizando uma mistura de 150 µL de HNO₃ 65% (v/v) e 50 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30% (v/v), ambos de alto grau de pureza (Suprapur[®]), da marca Merck. A mistura permaneceu em repouso durante aproximadamente uma hora e, então, submetida a banho ultrassônico por 30 minutos, em equipamento da marca Ultrasonic Cleaner, modelo USC750. Após a ultrassonicação a mistura permaneceu em repouso por,

aproximadamente, 12 horas. Após esse período, foi adicionado 300 µL de água ultrapura a cada tubo. O digerido final foi homogeneizado e levado para as determinações dos elementos metálicos por GF AAS.

3.4 Determinação de metais em água, sedimento e organismos

As espécies metálicas As, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb nos organismos aquáticos e as espécies As, Cd e Pb em sedimentos, foram determinados pela técnica de GF AAS.

As determinações dos metais Cr, Cu e Ni em água e sedimentos foram realizadas pela técnica de ICP OES.

A caracterização multielementar (concentração total) dos sedimentos foi realizada por meio da técnica de análise por ativação neutrônica (NAA).

3.4.1 Validação das metodologias utilizadas

Segundo INMETRO (2010), é fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, por meio da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida. A validação analítica depende dos objetivos da análise e técnica a ser empregada. Os parâmetros analíticos utilizados neste trabalho para validação foram os cálculos dos limites de detecção e quantificação, linearidade da curva analítica, utilização de materiais de referência certificado (MRC), fortificação de amostras e soluções de verificação da curva analítica. Os procedimentos de validação estão descritos em cada método utilizado.

3.4.2 Determinação de metais em águas e sedimentos por ICP OES

A determinação e quantificação das espécies Cr, Cu e Ni nas amostras de água e sedimento foram realizadas utilizando-se a técnica de ICP OES, em

equipamento da marca Spectro, modelo Flame ModulaS, com amostrador automático AS 400, gerenciado por software SmartAnalyser 2.25. Os digeridos das amostras, obtidos conforme procedimento descrito no item 3.3.2, foram aspirados pela câmara de nebulização a uma velocidade de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e desta para a tocha, onde um plasma de argônio induzido excita os átomos dos metais presentes, que emitem radiação característica de cada metal. Esta radiação é conduzida até um detector. A quantidade de radiação emitida pelo metal é diretamente proporcional à concentração deste presente na amostra. Para o cálculo da concentração, a quantidade de energia emitida por cada elemento na amostra foi comparada com uma curva de calibração. A verificação do equipamento consistiu no ajuste dos parâmetros de medida e no alinhamento das energias de emissão.

Ajustados os parâmetros, foi feita calibração antes de cada conjunto de elementos analisados, separados estes por séries de leitura de modo a minimizar qualquer interferência química ou espectral. Construiu-se uma curva de calibração para cada elemento de interesse, utilizando um branco analítico e três soluções analíticas de concentrações $0,20 \text{ mg L}^{-1}$, $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $5,0 \text{ mg L}^{-1}$. As soluções analíticas foram preparadas a partir de soluções padrão certificadas marca J. T. Baker, Merck, SpecSol, TecLab e Perkin Elmer e ácido nítrico 65% marca Carlo Erba. Transferiu-se alíquotas de 0,10 mL, 1,50 mL e 2,50 mL das soluções padrão certificadas 1000 mg L^{-1} de cada elemento para balões volumétricos de 500 mL, adicionou-se 50 mL de ácido nítrico e avolumou-se com água desionizada. O branco analítico foi preparado da mesma forma, porém sem adição de solução padrão. Foram aceitas curvas de calibração com linearidade maior que 0,95.

3.4.2.1 Validação da metodologia

Para as amostras de sedimento, foram utilizados os materiais de referência certificados Trace Metals - Sandy Clay 1 (Sigma-Aldrich CRM 049), BCR-145R (IRMM) e Inorganics in Marine Sediment (NIST SRM 2702), que possuem valores certificados de concentração para os elementos de interesse. Para as amostras de

água, foram utilizadas amostras fortificadas com soluções contendo $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr, $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Ni. Os materiais de referência e as amostras fortificadas foram digeridos seguindo os mesmos procedimentos para as amostras (item 3.3.2).

Para verificação da curva de calibração foram utilizadas soluções controle, preparadas a partir de soluções padrão diferentes das utilizadas para construção da curva. As concentrações das soluções de controle estão descritas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Concentração das soluções controle para verificação da curva de calibração – ICP OES

	Cr (mg L^{-1})	Cu (mg L^{-1})	Ni (mg L^{-1})
Controle 1	0,40	0,40	0,40
Controle 2	2,50	2,50	2,50
Controle 3	4,00	4,00	4,00

A partir dos resultados obtidos, foram calculados a recuperação, para os MRCs, amostras fortificadas e soluções controle, e o erro relativo, para os MRCs e amostras fortificadas, descritos a seguir:

a) **Recuperação:** a recuperação analítica é utilizada para avaliar a tendência de um método. A tendência, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. A determinação da tendência com relação aos valores de referência apropriados é importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos.

A tendência pode ser expressa como recuperação analítica, definida pela equação 3.1:

$$\boxed{R (\%) = \frac{C_i}{C_{ref}} \times 100} \quad (3.1)$$

onde:

R (%): recuperação analítica, em porcentagem

C_i : concentração obtida do analito

C_{ref} : concentração esperada do analito.

Para os métodos de digestão utilizados (item 3.3.2), o critério de aceitação de recuperação é: $75\% < R < 125\%$.

b) **Erro relativo**: uma forma de avaliar a exatidão do método é através do cálculo do erro relativo (ER), expresso em porcentagem, definido pela equação 3.2:

$$\boxed{ER (\%) = \frac{C_i - C_{ref}}{C_{ref}} \times 100} \quad (3.2)$$

onde:

ER (%): erro relativo, em porcentagem

C_i : concentração obtida do analito

C_{ref} : concentração esperada do analito.

São aceitáveis valores de erro relativo menores que 20%.

3.4.2.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método

O limite de detecção (LD) do método é definido como sendo a menor concentração de um analito na amostra que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade, nas condições estabelecidas para o método. Já o limite de quantificação (LQ) do método é definido como sendo a menor concentração de um analito na amostra que pode ser quantificada com um nível aceitável de precisão e veracidade, nas condições estabelecidas para o método. Existem várias formas para se calcular o LD e o LQ. Neste trabalho, para o cálculo do LD e do LQ, foram preparadas 10 soluções de cada elemento com concentrações entre 10 e 20 vezes menor que a concentração mais baixa da curva de calibração e realizadas determinações conforme os procedimentos específicos do ensaio e, em seguida, foi calculado o desvio padrão dos resultados. Os limites de detecção e quantificação foram calculados conforme as equações 3.3 e 3.4:

$$\boxed{LD = 0 + t_{(n-1, \dots, 1-\alpha)} \times S} \quad (3.3)$$

onde:

LD: limite de detecção do método

t : distribuição de Student

S: desvio padrão dos resultados obtidos.

$$\boxed{LQ = 0 + 10 \times S} \quad (3.4)$$

onde:

LQ: limite de quantificação do método

S: desvio padrão dos resultados obtidos.

Na Tabela 3.3 estão descritos os limites de detecção e quantificação para as determinações de Cr, Cu e Ni nas amostras de água pela a técnica de ICP OES.

Tabela 3.3 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de água pela técnica de ICP OES

Analito	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Cr	0,007	0,02
Cu	0,002	0,008
Ni	0,005	0,01

Para as amostras de sedimento, os limites de detecção e quantificação são os apresentados acima, convertidos para mg kg⁻¹, conforme equação 3.5:

$$\boxed{\text{mg kg}^{-1} = \frac{A \times V}{m}} \quad (3.5)$$

onde:

A: valor do LD ou LQ do método (mg L⁻¹)

V: desvio padrão dos resultados obtidos (mL)

m: massa da amostra utilizada na digestão (g).

Na Tabela 3.4 estão descritos os limites de detecção e quantificação para as determinações de Cr, Cu e Ni nas amostras de sedimento pela técnica de ICP OES.

Tabela 3.4 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de sedimento pela técnica de ICP OES

Analito	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
Cr	0,7	2,0
Cu	0,2	0,8
Ni	0,5	1,0

3.4.3 Determinação de metais em águas e sedimentos por GF AAS

A determinação e quantificação das espécies As, Cd e Pb nas amostras de água e sedimento foram realizadas utilizando a técnica de GF AAS. Para a determinação foi utilizado equipamento marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 600, com amostrador automático modelo AS-72, gerenciado por software WinLab 2,5. Uma alíquota de 20 µL dos digeridos das amostras, obtidos conforme procedimento descrito no item 3.3.2, foi introduzida, juntamente com o modificador de matriz apropriado, no interior do tubo de grafite através de tubo capilar do amostrador automático. O tubo de grafite sofre um aquecimento gradual programado, característico para cada metal a ser determinado. Durante este processo a concentração de cada metal de interesse é determinada pela absorção de parte da energia proveniente de uma fonte de radiação. A quantidade de radiação absorvida pelo metal é diretamente proporcional à concentração deste presente na amostra. As determinações foram realizadas em duplicatas, para cada amostra testada. Para o cálculo da concentração, a quantidade de energia absorvida de cada elemento na amostra foi comparada com uma curva de calibração.

Construiu-se uma curva de calibração para cada elemento de interesse, utilizando um branco analítico e três soluções analíticas de concentrações definidas. As soluções analíticas foram preparadas a partir de soluções padrão certificadas marca J. T. Baker, Merck, SpecSol, TecLab e Perkin Elmer, ácido clorídrico concentrado e ácido nítrico 65%, ambos marca Carlo Erba. As soluções analíticas de cada elemento foram preparadas conforme descrito a seguir:

a) **As**: para o As, as concentrações utilizadas foram $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $20,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de 4,00 mL da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um balão volumétrico de 200 mL, adicionando-se 5,0 mL de ácido nítrico, 2 mL de ácido clorídrico e avolumando-se com água deionizada. Transferiram-se, então, alíquotas de 0,100 mL, 0,500 mL e 1,000 mL da solução intermediária para balões volumétricos de 100 mL, adicionou-se 5,00 mL de ácido nítrico e avolumou-se com água deionizada.

b) **Cd**: para o Cd, as concentrações utilizadas foram $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$, $2,50 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de 0,20 mL da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um balão volumétrico de 200 mL, adicionando-se 5,0 mL de ácido nítrico, 2 mL de ácido clorídrico e avolumando-se com água deionizada. Transferiram-se, então, alíquotas de 0,100 mL, 0,500 mL e 1,000 mL da solução intermediária para balões volumétricos de 100 mL, adicionou-se 5,00 mL de ácido nítrico e avolumou-se com água deionizada.

c) **Pb**: para o Pb, as concentrações utilizadas foram $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de 2,00 mL da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um balão volumétrico de 200 mL, adicionando-se 5,0 mL de ácido nítrico, 2 mL de ácido clorídrico e avolumando-se com água deionizada. Transferiram-se, então, alíquotas de 0,100 mL, 0,500 mL e 1,000 mL da solução intermediária para balões volumétricos de 100 mL, adicionou-se 5,00 mL de ácido nítrico e avolumou-se com água deionizada.

O branco analítico foi preparado da mesma forma, porém sem adição de solução padrão. Foram aceitas curvas de calibração com linearidade maior que 0,995.

3.4.3.1 Validação da metodologia

Para as amostras de sedimento, foram utilizados os materiais de referência certificados Trace Metals - Sandy Clay 1 (Sigma-Aldrich CRM 049), BCR-145R – Sewage Sludge (IRMM) e Inorganics in Marine Sediment (NIST SRM 2702), que possuem valores certificados de concentração para os elementos de interesse. Para as amostras de água, foram utilizadas amostras fortificadas com soluções contendo $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd e $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Os materiais de referência e as amostras fortificadas foram digeridos seguindo-se os mesmos procedimentos das amostras (item 3.3.2).

Para verificação da curva de calibração foram utilizadas soluções controle, preparadas a partir de soluções padrão diferentes das utilizadas para construção da curva. As concentrações das soluções de controle estão descritas na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 – Concentração das soluções controle para verificação da curva de calibração – GF AAS

	As ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Controle 1	20,0	1,0	10,0
Controle 2	50,0	2,5	25,0
Controle 3	80,0	4,0	40,0

A partir dos resultados obtidos, foram calculados a recuperação, para os MRCs, amostras fortificadas e soluções controle, e o erro relativo, para os MRCs e amostras fortificadas, conforme descritos no item 3.4.2.1.

3.4.3.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método

Os limites de detecção e quantificação para determinação de As, Cd e Pb em amostras de água e sedimento pela técnica de GF AAS foram calculados segundo descrito no item 3.4.2.2. Nas Tabelas 3.6 e 3.7 estão apresentados os limites de detecção e quantificação para as determinações de As, Cd e Pb nas amostras de água e sedimento, respectivamente, pela a técnica de GF AAS.

Tabela 3.6 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de água pela técnica de GF AAS

Analito	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
As	0,0004	0,0014
Cd	0,00002	0,00006
Pb	0,0004	0,0013

Tabela 3.7 – Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para amostras de sedimento pela técnica de GF AAS

Analito	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
As	0,04	0,14
Cd	0,002	0,006
Pb	0,04	0,13

3.4.4 Determinação de metais em invertebrados bentônicos por GF AAS

A determinação e quantificação das espécies As, Cd, Cr, Cu, Pb e Ni nas amostras de invertebrados bentônicos, preparadas conforme procedimento descrito no item 3.3.4, foram realizadas utilizando a técnica de GF AAS. Para essa determinação foi utilizado equipamento marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 600,

com amostrador automático modelo AS-72, gerenciado por software WinLab 2,5. O procedimento utilizado é o mesmo descrito no item 3.4.3.

Construiu-se uma curva de calibração para cada elemento de interesse, utilizando um branco analítico e cinco soluções analíticas de concentrações definidas. As soluções analíticas foram preparadas a partir de soluções padrão certificadas marca Merck, SpecSol e Perkin Elmer e solução 0,2% (v/v) de ácido nítrico 65% Suprapur[®], marca Merck. As soluções analíticas de cada elemento foram preparadas conforme descrito a seguir:

a) **As**: para o As, as concentrações utilizadas foram $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $12,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $24,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $36,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $48,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL, adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $150 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $1350 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 0,2% (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $60,0 \mu\text{L}$, $120,0 \mu\text{L}$, $240,0 \mu\text{L}$, $360,0 \mu\text{L}$ e $480,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL, adicionando-se solução de HNO_3 0,2% (v/v) suficiente para completar o volume de 1,0 mL.

b) **Cd**: para o Cd, as concentrações utilizadas foram $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,40 \mu\text{g L}^{-1}$, $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ e $4,00 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL, adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $10 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $990 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 0,2% (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $20,0 \mu\text{L}$, $40,0 \mu\text{L}$, $100,0 \mu\text{L}$, $200,0 \mu\text{L}$ e $400,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL, adicionando-se solução de HNO_3 0,2% (v/v) suficiente para completar o volume de 1,0 mL.

c) **Cr**: para o Cr, as concentrações utilizadas foram $1,50 \mu\text{g L}^{-1}$, $2,50 \mu\text{g L}^{-1}$, $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, $10,00 \mu\text{g L}^{-1}$ e $20,00 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL , adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $75,0 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $1425 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $30,0 \mu\text{L}$, $50,0 \mu\text{L}$, $100,0 \mu\text{L}$, $200,0 \mu\text{L}$ e $400,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL , adicionando-se solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v) suficiente para completar o volume de $1,0 \text{ mL}$.

d) **Cu**: para o Cu, as concentrações utilizadas foram $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL , adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $300,0 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $1200 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $15,0 \mu\text{L}$, $50,0 \mu\text{L}$, $125,0 \mu\text{L}$, $250,0 \mu\text{L}$ e $500,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL , adicionando-se solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v) suficiente para completar o volume de $1,0 \text{ mL}$.

e) **Pb**: para o Pb, as concentrações utilizadas foram $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL , adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $300,0 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $1200 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $25,0 \mu\text{L}$, $50,0 \mu\text{L}$, $125,0 \mu\text{L}$, $250,0 \mu\text{L}$ e $500,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL , adicionando-se solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v) suficiente para completar o volume de $1,0 \text{ mL}$.

f) **Ni**: para o Ni, as concentrações utilizadas foram $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $40,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente foi preparada uma solução intermediária de concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, transferindo-se uma alíquota de $10,0 \mu\text{L}$ da solução padrão certificada 1000 mg L^{-1} para um tubo cônico de 15 mL , adicionando-se $100,0 \mu\text{L}$ de ácido nítrico e $9890 \mu\text{L}$ de água deionizada. A partir desta solução construiu-se uma solução de preparo diário de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$, transferindo-se $150,0 \mu\text{L}$ para uma cubeta de 2 mL contendo $1350 \mu\text{L}$ de solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v). Transferiram-se, então, alíquotas de $30,0 \mu\text{L}$, $50,0 \mu\text{L}$, $100,0 \mu\text{L}$, $200,0 \mu\text{L}$ e $400,0 \mu\text{L}$ desta solução para cubetas de 2 mL , adicionando-se solução de HNO_3 $0,2\%$ (v/v) suficiente para completar o volume de $1,0 \text{ mL}$.

Como branco analítico foi utilizado uma solução de ácido nítrico $0,2\%$ (v/v). Foram aceitas curvas de calibração com linearidade maior que $0,995$.

3.4.4.1 Validação da metodologia

Para verificação da precisão e exatidão do método foram analisados os materiais de referência certificados NIST SRM 2976 (Mussel Tissue), NIST SRM 1566b (Oyster Tissue) e IAEA-407 (Trace Metals and MethylMercury in Fish Homogenate), que possuem valores certificados para os elementos determinados. Os materiais de referência foram preparados seguindo-se os mesmos procedimentos das amostras (item 3.3.4).

A partir dos resultados obtidos, foram calculados a recuperação e o erro relativo conforme descritos no item 3.4.2.1.

3.4.4.2 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método

Segundo INMETRO (2010), para a análise em nível de traço, é recomendado adotar o LQ como a concentração mais baixa da curva analítica e para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível

em que a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do branco/ruído. Desta forma, para a determinação e quantificação das espécies As, Cd, Cr, Cu, Pb e Ni nas amostras de invertebrados bentônicos utilizando a técnica de GF AAS, decidiu-se adotar como LQ a concentração mais baixa da curva, não calculando então LD para as determinações. Na Tabela 3.8 estão descritos os limites de quantificação para as determinações de As, Cd, Cr, Cu, Pb e Ni nas amostras de invertebrados bentônicos pela a técnica de GF AAS.

Tabela 3.8 – Limites de quantificação (LQ) para amostras de invertebrados bentônicos pela técnica de GF AAS

Analito	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Analito	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
As	6,00	Cu	3,00
Cd	0,20	Pb	5,00
Cr	1,50	Ni	3,00

3.4.5 Análise instrumental por ativação neutrônica (INAA)

3.4.5.1 Preparação dos padrões sintéticos

Na técnica de INAA são utilizados padrões sintéticos, preparados a partir de soluções certificadas da SPEX CERTIPREP (USA), e diluídas a concentrações adequadas para a análise. Estes padrões são preparados pipetando-se um determinado volume da solução certificada do elemento em uma tira de papel filtro e deixados secar a temperatura ambiente. É comum utilizar-se padrões sintéticos multielementares, onde as soluções elementares certificadas são pipetadas no mesmo papel de filtro, agrupando-se os elementos de interesse de modo que não haja interferência espectral ou química entre si (BOSTELMANN, 2006).

3.4.5.2 Irradiação e contagem

Cerca de 150 mg de amostras de sedimento (duplicata), materiais de referência e padrões sintéticos foram irradiados por oito horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, no Reator de Pesquisa IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP. A primeira contagem foi realizada após um tempo de decaimento de 5 a 7 dias, por aproximadamente uma hora, para amostras e materiais de referência e de 15 a 30 minutos, para os padrões sintéticos. Os radioisótopos de $T_{1/2}$ (meia-vida) intermediária ^{76}As , ^{82}Br , ^{42}K , ^{140}La , ^{24}Na , ^{147}Nd , ^{239}Np , ^{122}Sb , ^{153}Sm e ^{175}Yb puderam ser determinados.

A segunda contagem foi realizada após um tempo de decaimento de quinze a vinte dias, e um tempo de contagem idêntico ao utilizado na primeira contagem. Os radioisótopos de $T_{1/2}$ longa: ^{131}Ba , ^{141}Ce , ^{60}Co , ^{57}Cr , ^{134}Cs , ^{152}Eu , ^{59}Fe , ^{181}Hf , ^{177}Lu , ^{233}Pa , ^{86}Rb , ^{124}Sb , ^{46}Sc , ^{75}Se , ^{182}Ta , ^{160}Tb , ^{169}Yb e ^{65}Zn , foram determinados.

Para a contagem das amostras e padrões utilizou-se detector feito de cristal semicondutor de germânio hiperpuro para a medida dos raios gama, associado a sistema eletrônico de aquisição de dados com analisador multicanal e computador. A resolução dos detectores é uma medida da habilidade em separar picos muito próximos em um espectro. Em geral, a resolução do detector é especificada em termos da largura e meia-altura dos fotopicos de 121,97 keV do Co-57 e 1332,49 keV do Co-60 (GLASCOCK, 2010). No presente estudo a aquisição de dados foi feita a partir de medidas feitas no espectrômetro de raios gama marca CANBERRA, com resolução para o pico de 121,97 keV do ^{57}Co de 1,1 keV e de 2,0 keV, para o pico de 1332,49 do ^{60}Co .

As atividades obtidas a partir dos espectros de raios gama gerados pelas contagens, foi possível calcular as concentrações dos elementos de interesse utilizando planilhas de Microsoft Excel e a expressão 2.1.

3.4.5.3 Validação da metodologia

Para verificação da precisão e exatidão do método foram analisados os materiais de referência certificados (MRC) BEN (Basalt-IWG-GIT), SL-1 (Lake Sediment – IAEA) e Soil-5 (IAEA), que possuem valores certificados para quase todos os elementos analisados.

3.4.5.4 Aceitação dos resultados de INAA

Para a validação dos resultados obtidos pela técnica de INAA, é frequentemente utilizado o critério de Z-score (BODE, 1996). O cálculo da diferença padronizada ou valor de Z de um resultado analítico é dado pela equação 3.6:

$$Z = \frac{C_i - C_{ref}}{\sqrt{\sigma_i^2 + \sigma_{ref}^2}} \quad (3.6)$$

onde:

C_i : concentração do elemento i na análise do MR

C_{ref} : valor certificado de concentração ou de consenso para o elemento i;

σ_i : incerteza da concentração do elemento i na análise do MR;

σ_{ref} : incerteza do valor de consenso certificado para o elemento i.

Segundo BODE (1996), o uso do valor de Z para aprovação dos resultados considera que se $|Z| \leq 3$, o resultado de concentração do elemento individual no material de referência que esta sendo analisado deve estar dentro de 99% do intervalo de confiança do valor esperado.

3.4.5.5 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Para a técnica de INAA, o cálculo do limite de detecção foi realizado a partir da equação 3.7, na qual o valor de LD é dado em contagens por segundo (CPS), valor convertido para a unidade de concentração (mg kg^{-1}), através da equação 3.7:

$$LD_{(\text{mg kg}^{-1})} = \left(\frac{3\sqrt{BG}}{T_{\text{vivo}}} \right) \frac{U * m_a}{A} \quad (3.7)$$

onde:

BG: valor da contagem do background no fotopico do elemento de interesse no espectro do material de referência (MR);

T_{vivo} : tempo vivo de contagem do material de referência;

U: concentração certificada do elemento no material de referência;

A: atividade, de um dado elemento, no espectro do material de referência;

M_a : massa do MR (em gramas)

Já o limite de quantificação (LQ) foi calculado a partir do valor do limite de detecção (LD), conforme equação 3.8:

$$LQ = 3 \times LD \quad (3.8)$$

Na Tabela 3.9 estão apresentados os valores de LD e LQ calculados para os materiais de referência SL-1 e BEN.

Tabela 3.9 - Valores de LD e LQ para os materiais de referência SL-1 e BEN

Elemento	SL-1		BEN	
	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
As	0,60	1,60	0,90	2,80
Ba	73,80	221,50	44,80	134,40
Ca (%)			0,44	1,31
Ce	1,17	3,50	1,55	4,65
Co	0,38	1,15	0,71	2,12
Cr	2,10	6,30	3,50	10,50
Cs	0,64	1,91		
Eu	0,11	0,34	0,21	0,62
Fe	0,02	0,07	0,04	0,13
Hf	0,25	0,75	0,17	0,50
La	0,13	0,40	0,24	0,71
Lu	0,03	0,10	0,03	0,10
Na	17,00	51,00	49,00	158,00
Nd			27,00	81,00
Rb	3,90	11,80	11,10	33,20
Sb	0,12	0,37		
Sc	0,05	0,14	0,14	0,43
Sm	0,07	0,21	0,11	0,32
Ta			0,47	1,40
Tb	0,41	1,22	0,40	1,19
Th	0,22	0,65	0,28	0,84
U	0,58	1,75	0,50	1,49
Yb	0,15	0,46	0,19	0,56
Zn	12,60	37,70	18,70	56,00

3.4.5.6 Fator de Enriquecimento (FE)

O fator de enriquecimento (FE), definido como a dupla razão normalizada para um elemento de referência, é um índice usado como uma ferramenta para avaliar a extensão da poluição por metais (AUDRY et al., 2004). Os metais Fe, Al e Sc são os mais usados para propósitos de normalização (GOMES et al., 2009), sendo utilizado no presente estudo o Sc como elemento normalizador. Os valores de referência utilizados para sedimento no presente estudo foram os valores do NASC (North American Shale Composite) (TAYLOR & MCLENNAN, 1985). Os

valores de concentração para Sc e para os demais elementos analisados foram aqueles obtidos por INAA.

Para cálculo do FE utilizou-se a Equação 3.9 (DICKINSON et al., 1996; HORNING et al., 1989; ABRAHIM et al., 2005; todos apud REZAEI et al., 2011):

$$FE = \frac{\left(\frac{[elemento]}{[Sc]}\right)_{amostra}}{\left(\frac{[elemento]}{[Sc]}\right)_{referência}} \quad (3.9)$$

onde:

$\left(\frac{[elemento]}{[Sc]}\right)_{amostra}$: razão entre a concentração do elemento de interesse e a concentração de Sc na amostra.

$\left(\frac{[elemento]}{[Sc]}\right)_{referência}$: razão entre a concentração de referência do elemento de interesse e a concentração de referência do Sc.

Por convenção, se o valor de $0,5 < FE < 1,5$, considera-se que os metais traço são provenientes totalmente de contribuição crustal (por exemplo, produto de intemperismo) e um valor de $EF > 1,5$, é indicativo de que a fonte principal é de contribuição antrópica. Quanto maior o valor de **FE**, maior o grau de poluição de origem antrópica (ZHANG & LIU, 2002).

3.4.5.7 Tratamento estatístico dos dados – análise estatística multivariada

Neste estudo para compor a interpretação dos dados analíticos foram aplicados métodos estatísticos e utilizou-se o programa Statistica 7.0 (STATSOFT). Foram aplicados a Análise de Agrupamento e Análise Fatorial.

Análise de agrupamentos: A análise de agrupamentos ou (clusters analysis) caracteriza um grupo de técnicas multivariadas com o objetivo de agrupar elementos (amostras ou outros grupos) com base em suas características. Esta análise consiste na classificação destes objetos através da similaridade. Como resultado os agrupamentos devem exibir elevada homogeneidade interna, ou seja, dentro dos agrupamentos e também elevada heterogeneidade externa sendo entre os agrupamentos. Com isso se for bem sucedida, estes agrupamentos estarão graficamente apresentando os objetos de dentro dos agrupamentos próximos enquanto que os agrupamentos externos estarão distantes.

Conforme Quinágua (2006), para efetuarmos a medição de similaridade neste trabalho foi utilizada a distância euclidiana entre cada par de observações. Optando-se por esta medida sabe-se que as menores distâncias indicam maior similaridade, enquanto que as maiores indicam uma heterogeneidade. Definida a medida de similaridade, tem-se que desenvolver um procedimento para formação de agrupamentos. Uma das técnicas utilizadas é a do agrupamento hierárquico que interliga os objetos (amostras ou elementos) por suas associações podendo ser representado, como neste trabalho, por meio de dendrogramas, que gera uma melhor visualização espacial das semelhanças obtidas. Entre os métodos de agrupamentos mais utilizados estão o do vizinho mais próximo, o vizinho mais afastado e o método de WARD que é o método da variância mínima, escolhido para uso no presente estudo.

Para melhor interpretação, os resultados obtidos foram divididos em dois grupos, ou seja, as análises de agrupamento foram feitas considerando-se as:

- Concentração dos elementos analisados e os
- Pontos de amostragem

Análise Fatorial (Camargo, 1996): A análise fatorial é uma das técnicas mais usuais do que se convencionou chamar de análise multivariada. Quando empregamos este tipo de análise estamos frequentemente interessados no

comportamento de uma variável ou grupos de variáveis em covariação com outras.

Em realidade a análise fatorial não se refere a uma única técnica estatística, mas a uma variedade de técnicas relacionadas para tornar os dados observados mais facilmente (e diretamente) interpretados. Isto é feito analisando-se os inter-relacionamentos entre as variáveis de tal modo que estas possam ser descritas convenientemente por um grupo de categorias básicas, em número menor que as variáveis originais, chamado fatores. Assim, o objetivo da análise fatorial é a parcimônia, procurando definir o relacionamento entre as variáveis de modo simples e usando um número de fatores menor que o número original de variáveis.

Mais precisamente, um fator é um construto, uma entidade hipotética, uma variável não observada, que se supõe estar subjacente a testes, escalas, itens e, de fato, medidas de qualquer espécie. Como construtos, os fatores apenas possuem realidade no fato de explicarem a variância de variáveis observadas, tal como se revelam pelas correlações entre as variáveis sendo analisadas, ou seja, a única realidade científica que os fatores possuem vem das correlações entre testes ou variáveis sendo pesquisadas. Se os resultados de indivíduos em itens ou testes caminham juntos, então, na medida em que existam correlações substanciais entre eles, está definido um fator.

As cargas fatoriais obtidas são, com efeito, reduções de dados muito mais complexos a tamanho manuseável para que o pesquisador possa interpretar melhor os resultados.

3.5 Análises granulométricas

As determinações de granulometria nas amostras de sedimento foram executadas de acordo com a norma CETESB L6.160 – Sedimentos: determinação da distribuição granulométrica – método de ensaio (CETESB, 1995), sendo esta análise baseada nos princípios de peneiramento e sedimentação norteados pela escala de Wentworth, que tem como fundamento as velocidades médias das

partículas em um meio aquoso. Quanto maior as partículas, maior sua velocidade de sedimentação. As determinações de granulometria foram executadas pelo Setor de Laboratórios de Taubaté da CETESB.

3.6 Avaliação ecotoxicológica de água e sedimentos

3.6.1 Testes de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

A toxicidade da água e sedimento foi determinada utilizando o teste de toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri*. Os testes foram realizados em equipamento analisador de toxicidade marca Azur Environmental, modelo M500, Sistema Microtox®.

Antes do início dos testes foram medidos o pH e a salinidade das amostras de água e da água intersticial extraída das amostras de sedimento (item 3.3.3). O pH de todas as amostras encontrou-se na faixa ideal para o teste (6,0 a 8,5), não sendo necessário realizar correção. Nenhuma das amostras apresentou salinidade, sendo necessário realizar a correção em todas, adicionando-se 0,1 mL de uma solução de NaCl 22% (m/v) a cada 1,0 mL de amostra testada. Após a correção, foi realizada série de 9 diluições subsequentes 1:2 de cada amostra, em cubetas apropriadas, utilizando solução de NaCl 2% (m/v) como diluente. No momento do teste, 0,9 mL de cada diluição foi adicionado a 0,1 mL da suspensão bacteriana contido em outra série de cubetas, as quais tiveram a emissão da luminescência previamente medida. Após 15 minutos, mediu-se novamente a luminescência da bactéria em cada cubeta. O decréscimo na emissão de luz foi calculado e construiu-se uma curva dose-resposta em relação à série de diluições da amostra. A partir desta curva, obtiveram-se os valores de CE20 para cada amostra.

3.6.1.1 Validação da metodologia

Como validação, para cada cubeta de bactéria utilizada, antes dos testes com as amostras, foram realizados testes com um controle positivo (solução de sulfato de zinco heptaidratado - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100 mg L⁻¹). Os testes são considerados válidos quando o controle apresentar CE50 entre 3,0 e 10,0 mg L⁻¹.

3.7 Avaliação da comunidade bentônica

A metodologia empregada para identificação e contagem da comunidade bentônica teve como base a Norma Técnica CETESB L5.309 – Determinação de bentos de água doce – macroinvertebrados: métodos qualitativos e quantitativos (CETESB, 2003). As amostras foram fixadas em campo com formalina neutralizada 4% e, ao chegarem ao laboratório, foram lavadas sob água corrente em peneiras de 0,5 mm de abertura de malha. O material retido na peneira foi transferido para potes de vidro ou plástico contendo álcool 70 °GL e corante rosa de bengala 0,1% (v/v) em álcool etílico, para facilitar a visualização dos organismos. No processo de triagem, que consiste na separação dos organismos dos detritos, porções das amostras foram transferidas para placas de Petri com fundo quadriculado e separados, sob microscópio estereoscópico, os organismos bentônicos do material inorgânico. Os organismos foram então identificados pela equipe de especialistas do Setor de Comunidades Aquáticas da CETESB, utilizando chaves de identificação apropriadas. Após a identificação foi realizado o cálculo da densidade dos organismos, dividindo o número de organismos pela área do amostrador utilizado.

3.7.1 Controle de qualidade

Como controle de qualidade foi realizado a retriagem das amostras. As amostras triadas e identificadas foram guardadas e enviadas para uma reavaliação por um analista diferente daquele que realizou a primeira avaliação.

3.8 Tratamento estatístico dos dados – análise estatística multivariada

Após análise descritiva dos dados utilizando gráficos do tipo BoxPlot, foi detectada a necessidade de proceder a uma transformação nos dados originais de concentração de metais para aplicação das técnicas estatísticas multivariadas, sendo então aplicada a transformação logarítmica na base neperiana (ln).

Para avaliação da influência da área amostrada, dos organismos e controlando pela massa, foi aplicada a técnica multivariada de Modelos Lineares Gerais (MLG), considerando como fatores área amostrada e os organismos e como covariada, a massa. As concentrações dos metais foram analisadas como variáveis dependentes (ou resposta). O Método de Bonferroni foi utilizado para testes de comparações múltiplas de médias, visando apontar onde se localizaram as diferenças apontadas no MLG.

Para estabelecer um ranking de contaminação dos organismos, foi aplicada a técnica multivariada de Análise Hierárquica de Cluster (conglomerado), empregando o Método de Ward para criação dos clusters. A técnica foi aplicada aos dados normalizados por tipo de metal.

Coefficientes de correlação de Pearson foram calculados para avaliar a associação (dois a dois) entre metais nos organismos e as massas dos mesmos.

Análise de Correlação Canônica foi aplicada aos dois conjuntos de dados formados pelas concentrações de metais nos organismos e metais no sedimento.

O nível de significância adotado para o estudo foi de 5%. Para todas as estatísticas foram computados o nível descritivo (p) das estatísticas observadas.

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações de elementos metálicos nas amostras de água, sedimento e organismos bentônicos por GF AAS e ICP OES, a caracterização multielementar dos sedimentos por NAA, análise granulométrica nas amostras de sedimentos e resultados dos testes de toxicidade e da avaliação da comunidade bentônica são apresentados a seguir.

4.1 Validação das metodologias de GF AAS e ICP OES

Os resultados obtidos para validação das metodologias analíticas utilizadas neste trabalho estão descritos a seguir.

4.1.1 Análises de brancos

As soluções utilizadas como brancos apresentaram sinais analíticos inferiores aos sinais referentes aos valores dos limites de detecção (LD) dos métodos em todas as determinações.

4.1.2 Linearidade analítica

As curvas analíticas utilizadas nas metodologias para determinação das espécies metálicas de interesse em amostras de água, sedimento e organismos bentônicos pelas técnicas de ICP OES e GF AAS apresentaram coeficientes de linearidade superiores a 99,5% em todas as determinações.

4.1.3 Verificação das curvas analíticas

Para verificação das curvas de calibração utilizadas nas metodologias para determinação das espécies metálicas de interesse em amostras de água e sedimento, pelas técnicas de ICP OES e GF AAS, foram utilizadas soluções controle, preparadas a partir de soluções padrão diferentes das utilizadas para construção da curva. Foram calculados a média dos resultados obtidos, o desvio padrão entre as replicatas testadas e a recuperação analítica dos resultados médios. São aceitos valores de recuperação entre 75% e 125%. Para todos os resultados, as recuperações analíticas obtidas encontraram-se entre 94,8% e 107,6%. Nas Tabelas 4.1 a 4.4 estão apresentadas as concentrações das soluções controle utilizadas, as médias dos resultados obtidos nas replicatas das soluções controle, o desvio padrão das replicatas e a recuperação analítica.

Tabela 4.1 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por GF AAS em amostras de água

Elemento	Solução	CR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (%)	R (%)
As	Controle 1	20,00	20,16	3,91	100,8
	Controle 2	50,00	53,13	4,60	106,3
	Controle 3	80,00	82,38	4,04	103,0
Cd	Controle 1	1,00	1,03	0,15	102,9
	Controle 2	2,50	2,46	0,19	98,3
	Controle 3	4,00	3,95	0,20	98,8
Pb	Controle 1	10,00	9,97	1,43	99,7
	Controle 2	25,00	24,65	1,58	98,6
	Controle 3	40,00	40,38	2,48	100,9

CR – concentração real; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R - recuperação

Tabela 4.2 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por GF AAS em amostras de sedimento

Elemento	Solução	CR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (%)	R (%)
As	Controle 1	20,00	19,82	6,92	99,1
	Controle 2	50,00	53,00	6,33	106,0
	Controle 3	80,00	85,72	1,00	107,2
Cd	Controle 1	1,00	1,06	0,10	105,6
	Controle 2	2,50	2,53	0,13	101,0
	Controle 3	4,00	3,93	0,23	98,3
Pb	Controle 1	10,00	10,76	1,87	107,6
	Controle 2	25,00	26,55	5,06	106,2
	Controle 3	40,00	42,55	7,12	106,4

CR – concentração real; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R - recuperação

Tabela 4.3 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por ICP OES em amostras de água

Elemento	Solução	CR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (%)	R (%)
Cr	Controle 1	0,40	0,39	0,03	97,1
	Controle 2	2,50	2,43	0,15	97,1
	Controle 3	4,00	3,94	0,25	98,6
Cu	Controle 1	0,40	0,39	0,02	97,3
	Controle 2	2,50	2,46	0,08	98,3
	Controle 3	4,00	4,02	0,19	100,5
Ni	Controle 1	0,40	0,39	0,03	98,2
	Controle 2	2,50	2,48	0,08	99,3
	Controle 3	4,00	4,05	0,10	101,3

CR – concentração real; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R - recuperação

Tabela 4.4 – Média dos resultados, desvio padrão e recuperação analítica das soluções controle para determinação por ICP OES em amostras de sedimento

Elemento	Solução	CR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (%)	R (%)
Cr	Controle 1	0,40	0,39	0,01	97,4
	Controle 2	2,50	2,38	0,21	95,2
	Controle 3	4,00	3,79	0,44	94,8
Cu	Controle 1	0,40	0,40	0,02	100,1
	Controle 2	2,50	2,62	0,42	104,71
	Controle 3	4,00	4,25	0,14	106,2
Ni	Controle 1	0,40	0,41	0,01	102,5
	Controle 2	2,50	2,62	0,01	104,8
	Controle 3	4,00	4,03	0,13	100,8

CR – concentração real; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R - recuperação

4.1.4 Amostras fortificadas

Para validação das metodologias de determinação das espécies metálicas de interesse em amostras de água, pelas técnicas de ICP OES e GF AAS, foram realizadas determinações destes elementos em amostras fortificadas. As determinações foram realizadas em duplicata para cada amostra. Foram calculados a média dos resultados obtidos, o desvio padrão entre as duplicatas testadas, a recuperação analítica e o erro relativo dos resultados médios. São aceitos valores de recuperação entre 75% e 125% e de erro relativo de $\pm 20\%$. Para todos os resultados, as recuperações analíticas obtidas encontraram-se entre 95,8% e 109,1% e os valores de erro relativo, entre -4,2% e 9,1%. Nas Tabelas 4.5 e 4.6 estão apresentadas as concentrações das fortificações, as médias dos resultados obtidos nas duplicatas das amostras fortificadas, o desvio padrão das duplicatas, a recuperação analítica e o erro relativo.

Tabela 4.5 – Média dos resultados, desvio padrão, recuperação analítica e erro relativo das amostras fortificadas de água por GF AAS

Elemento	Amostra	F ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (%)	R (%)	ER (%)
As	1	20,00	19,50	0,28	97,5	-2,5
	2	20,00	19,65	0,78	98,3	-1,8
Cd	1	2,00	1,96	0,02	97,9	-2,1
	2	2,00	1,95	0,21	97,5	-2,5
Pb	1	20,00	19,35	0,64	96,8	-3,2
	2	20,00	20,10	0,21	100,5	0,5

F – fortificação; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R – recuperação, ER – erro relativo

Tabela 4.6 – Média dos resultados, desvio padrão, recuperação analítica e erro relativo das amostras fortificadas de água por ICP OES

Elemento	Amostra	F (mg L^{-1})	CO (mg L^{-1})	DP (%)	R (%)	ER (%)
Cr	1	1,00	0,96	0,02	95,8	-4,2
	2	1,00	0,96	0,00	96,3	-3,7
	3	1,00	1,05	0,02	104,9	5,0
Cu	1	1,00	1,00	0,01	99,9	-0,1
	2	1,00	0,98	0,01	98,0	-2,0
	3	1,00	1,02	0,01	101,9	1,8
Ni	1	2,00	2,18	0,05	109,1	9,1
	2	2,00	1,98	0,01	99,1	-1,0
	3	2,00	2,09	0,01	104,6	4,6

F – fortificação; CO – concentração obtida; DP – desvio padrão; R – recuperação, ER – erro relativo

4.1.5 Materiais de Referência Certificados

Para validação das metodologias para determinação das espécies metálicas de interesse em amostras de sedimento, pelas técnicas de ICP OES e GF AAS, e em amostras de invertebrados bentônicos, pela técnica de GF AAS, foram

realizadas determinações em Materiais de Referência Certificados (MRC). A partir dos resultados obtidos, foram calculadas a recuperação analítica e o erro relativo. São aceitos valores de recuperação entre 75% e 125% e de erro relativo de $\pm 20\%$.

4.1.5.1 Determinação de metais em sedimento por GF AAS

Na Tabela 4.7 estão apresentados os MRCs utilizados, o valor das concentrações certificadas, os resultados obtidos, a recuperação analítica e o erro relativo para a metodologia de determinação das espécies metálicas em amostras de sedimento pela técnica de GF AAS. Para todos os resultados, as recuperações analíticas obtidas encontraram-se entre 80,4% e 117,6% e os valores de erro relativo, entre -19,7% e 17,6%.

Tabela 4.7 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo dos MRCs para sedimento por GF AAS

Elemento	MRC	VC (mg kg ⁻¹)	CO (mg kg ⁻¹)	R (%)	ER (%)
As	CRM 049	65,30	56,65	86,8	-13,2
	CRM 049	65,30	60,23	92,2	-7,8
	SRM 2702	45,30	43,18	95,3	-4,7
	SRM 2702	45,30	47,03	103,8	3,8
Cd	CRM 049	80,00	78,50	98,1	-1,9
	CRM 049	80,00	86,85	108,6	8,6
	SRM 2702	0,82	0,83	102,0	2,0
	SRM 2702	0,82	0,79	97,2	-2,8
Pb	CRM 049	111,00	99,97	90,1	-9,9
	CRM 049	111,00	130,50	117,6	17,6
	SRM 2702	132,80	135,00	101,7	1,7
	SRM 2702	132,80	127,70	96,2	-3,8
	BCR 145	282,00	223,60	80,4	-19,6

VC – valor certificado; CO – concentração obtida; R – recuperação, ER – erro relativo

4.1.5.2 Determinação de metais em sedimento por ICP OES

Na Tabela 4.8 estão apresentados os MRCs utilizados, o valor das concentrações certificadas, os resultados obtidos, a recuperação analítica e o erro relativo para a metodologia de determinação das espécies metálicas em amostras de sedimento pela técnica de ICP OES. Para todos os resultados, as recuperações analíticas obtidas encontraram-se entre 78,0% e 104,2% e os valores de erro relativo, entre -18,6% e 4,2%.

Tabela 4.8 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo dos MRCs para sedimento por ICP OES

Elemento	MRC	VC (mg kg ⁻¹)	CO (mg kg ⁻¹)	R (%)	ER (%)
Cr	CRM 049	355,00	304,50	85,8	-14,2
	CRM 049	355,00	316,70	89,2	-10,8
	CRM 049	355,00	324,60	91,4	-8,6
	BCR 145	307,00	250,00	81,4	-18,6
	BCR 145	307,00	254,40	82,9	-17,1
	BCR 145	307,00	250,50	81,6	-18,4
Cu	CRM 049	88,50	84,40	95,4	-4,6
	CRM 049	88,50	91,50	103,4	3,4
	CRM 049	88,50	79,30	89,6	-10,4
	BCR 145	707,00	614,00	86,9	-13,2
	BCR 145	707,00	627,00	88,7	-11,3
	BCR 145	707,00	645,00	91,2	-8,8
Ni	CRM 049	344,00	334,60	97,3	-2,7
	CRM 049	344,00	354,30	103,0	3,0
	CRM 049	344,00	358,50	104,2	4,2
	SRM 2702	75,40	63,10	83,7	-16,3
	SRM 2702	75,40	64,10	85,0	-15,0
	BCR 145	251,00	209,20	83,4	-16,6
	BCR 145	251,00	213,70	85,1	-14,9
	BCR 145	251,00	215,80	86,0	-14,0

VC – valor certificado; CO – concentração obtida; R – recuperação, ER – erro relativo

4.1.5.3 Determinação de metais em organismos bentônicos por GF AAS

Na Tabela 4.9 estão apresentados os MRCs utilizados, o valor das concentrações certificadas, os resultados obtidos, a recuperação analítica e o erro relativo para a metodologia de determinação de Cd, Cu, Ni e Pb em amostras de organismos bentônicos, pela técnica de GF AAS. Para todos os resultados, as recuperações analíticas obtidas encontraram-se entre 86,5% e 119,3% e os valores de erro relativo, entre -13,5% e 19,3%.

Tabela 4.9 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo para a determinação de Cd, Cu, Ni e Pb nos MRCs em organismos bentônicos por GF AAS

Elemento	MRC	VC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g g}^{-1}$)	R (%)	ER (%)
Cd	SRM 2976	0,82	0,82	100,0	0,0
	SRM 2976	0,82	0,79	96,3	-3,7
	SRM 2976	0,82	0,74	90,2	-9,8
	SRM 2976	0,82	0,75	91,5	-8,5
Cu	SRM 2976	4,02	4,50	111,9	11,9
	SRM 2976	4,02	3,92	97,5	-2,5
	SRM 2976	4,02	3,84	95,5	-4,5
	SRM 2976	4,02	4,78	118,9	18,9
Ni	SRM 1566b	1,04	0,91	87,5	-12,5
	SRM 1566b	1,04	0,99	95,2	-4,8
	SRM 1566b	1,04	0,96	92,3	-7,7
	SRM 1566b	1,04	0,90	86,5	-13,5
Pb	SRM 2976	1,19	1,42	119,3	19,3
	SRM 2976	1,19	1,11	93,3	-6,7
	SRM 2976	1,19	1,15	96,6	-3,4
	SRM 2976	1,19	1,16	97,5	-2,5

VC – valor certificado; CO – concentração obtida; R – recuperação, ER – erro relativo

As metodologias para determinação dos elementos **As** e **Cr** não foram validadas, pois durante o desenvolvimento não foram obtidos resultados confiáveis

de recuperação nos MRCs utilizados, sendo necessário dar sequência aos estudos para desenvolvimento destas metodologias. Na Tabela 4.10 estão apresentados os MRCs utilizados, o valor das concentrações certificadas, os resultados obtidos, a recuperação analítica e o erro relativo obtidos nessas análises.

Tabela 4.10 – Resultados, recuperação analítica e erro relativo para a determinação de As e Cr nos MRCs em organismos bentônicos por GF AAS

Elemento	MRC	VC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CO ($\mu\text{g g}^{-1}$)	R (%)	ER (%)
As	SRM 2976	13,30	10,17	76,5	-23,5
	SRM 2976	13,30	5,84	43,9	-56,1
	SRM 2976	13,30	2,95	22,2	-77,8
	SRM 2976	13,30	7,88	59,3	-40,7
	SRM 2976	13,30	7,05	53,0	-47,0
	SRM 2976	13,30	7,71	58,0	-42,0
	SRM 2976	13,30	6,33	47,6	-52,4
	SRM 1566b	7,65	3,37	44,0	-56,0
	SRM 1566b	7,65	4,00	52,3	-47,7
	SRM 1566b	7,65	2,02	26,4	-73,6
	SRM 1566b	7,65	4,87	63,6	-36,4
	IAEA-407	12,60	7,14	56,7	-43,3
	IAEA-407	12,60	2,99	23,7	-76,3
	IAEA-407	12,60	5,70	45,3	-54,8
	IAEA-407	12,60	1,31	10,4	-89,6
	Cr	IAEA-407	0,73	1,09	149,3
IAEA-407		0,73	0,33	45,2	-54,8
IAEA-407		0,73	0,32	43,8	-56,2
IAEA-407		0,73	0,65	89,0	-11,0
IAEA-407		0,73	0,37	50,7	-49,3
IAEA-407		0,73	0,76	104,1	4,1
IAEA-407		0,73	0,37	50,7	-49,3
IAEA-407		0,73	0,35	48,0	-52,0
IAEA-407		0,73	0,36	49,3	-50,7
IAEA-407		0,73	0,24	32,9	-67,1
IAEA-407		0,73	0,48	65,8	-34,2
IAEA-407		0,73	0,32	43,8	-56,2
IAEA-407		0,73	0,25	34,3	-65,8
IAEA-407		0,73	0,21	28,8	-71,2

VC – valor certificado; CO – concentração obtida; R – recuperação, ER – erro relativo

4.1.6 Testes de Toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

Como validação, para cada cubeta de bactéria utilizada, antes dos testes com as amostras, foram realizados testes com um controle positivo. Todos os testes realizados foram válidos, apresentando valores de CE50 dentro da faixa de aceitação (3,0 e 10,0 mg L⁻¹).

4.1.7 Análise instrumental por ativação neutrônica (INAA)

Para verificação da precisão e exatidão do método foram analisados MRCs que possuem valores certificados para quase todos os elementos analisados. Para a validação dos resultados obtidos foi utilizado o critério de Z-score, considerando válidos valores de $|Z| \leq 3$, que significa que a concentração do elemento no MRC encontra-se dentro de 99% do intervalo de confiança do valor esperado (item 3.4.5.4). Na Figura 4.1 estão apresentados os gráficos de Z-score para os MRCs analisados.

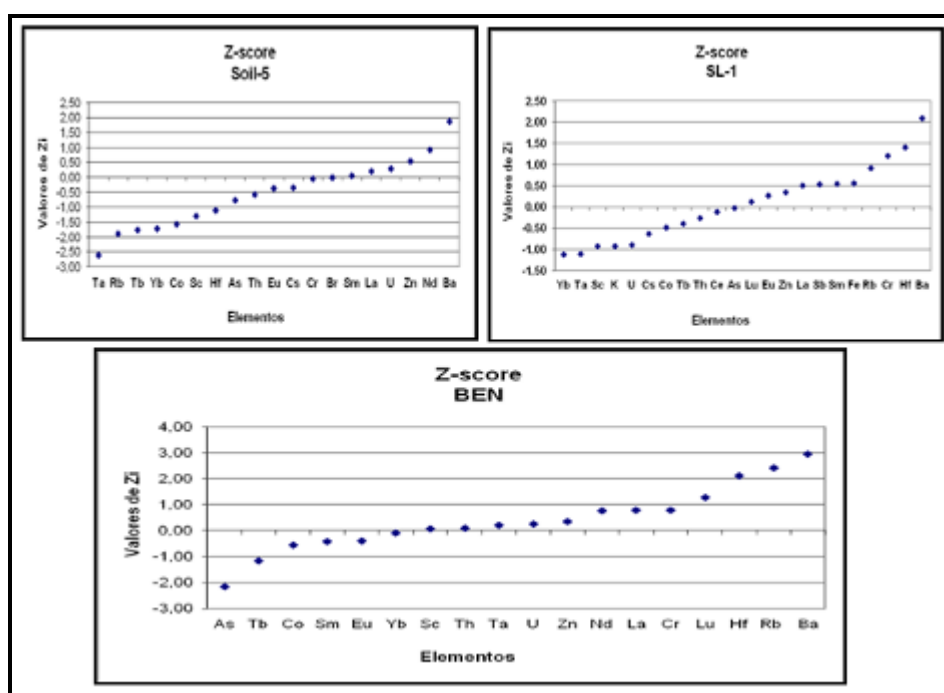


Figura 4.1 – Gráficos de Z-score obtidos nas análises dos MRCs por INAA

Todos os testes realizados nos MRCs foram válidos, apresentando valores de Z-score dentro da faixa aceitável. Nas Tabela 4.11 a 4.13 estão apresentadas as concentrações de cada elemento obtidas nos MRCs, os desvios padrão, os valores certificados e os respectivos desvios padrão e os valores de Z-score.

Tabela 4.11 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC Soil-5 e Z-score calculado para cada elemento

Elemento	Concentrações obtidas (mg kg ⁻¹)		Valores certificados (mg kg ⁻¹)		Z
	Média	DP (%)	Valor	DP (%)	
As	83,2	11,9	93,9	7,5	-0,76
Ba	698,4	51,0	561,0	53,0	1,87
Br	5,0	0,2	5,0	1,0	0,00
Co	13,2	0,6	14,8	0,8	-1,58
Cr	28,8	1,0	28,9	2,8	-0,04
Cs	55,4	1,6	56,7	3,3	-0,35
Eu	1,1	0,1	1,2	0,1	-0,37
Hf	5,8	0,4	6,3	0,3	-1,11
La	29,1	4,5	28,1	1,5	0,21
Nd	31,4	0,3	29,9	1,6	0,92
Rb	117,4	8,0	138,0	7,4	-1,89
Sc	13,9	0,1	14,8	0,7	-1,30
Sm	5,5	1,0	5,4	0,4	0,05
Ta	0,5	0,1	0,8	0,1	-2,60
Tb	0,5	0,0	0,7	0,1	-1,77
Th	10,7	0,7	11,3	0,7	-0,57
U	3,2	0,2	3,0	0,5	0,29
Yb	1,6	0,3	2,2	0,2	-1,72
Zn	422,5	100,9	368,0	8,2	0,54

DP – Desvio padrão

Tabela 4.12 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC SL-1 e Z-score calculado para cada elemento

Elemento	Concentrações obtidas (mg kg ⁻¹)		Valores certificados (mg kg ⁻¹)		Z
	Média	DP (%)	Média	DP (%)	
As	27,5	2,2	27,6	2,9	-0,02
Ba	791,0	50,0	639,0	53,0	2,09
Ce	115,0	2,0	117,0	17,0	-0,12
Co	18,9	0,8	19,8	1,5	-0,49
Cr	115,2	2,6	104,0	9,0	1,20
Cs	6,4	0,3	7,0	0,9	-0,63
Eu	1,7	0,2	1,6	0,5	0,26
Fe	6,9	0,2	6,7	0,2	0,56
Hf	5,1	0,1	4,2	0,6	1,41
K	1,2	0,1	1,4	0,2	-0,93
La	55,7	5,1	52,6	3,1	0,51
Lu	0,6	0,0	0,5	0,1	0,12
Rb	125,5	8,0	113,0	11,0	0,92
Sb	1,7	0,7	1,3	0,1	0,53
Sc	16,3	0,1	17,3	1,1	-0,93
Sm	9,9	1,1	9,2	0,5	0,54
Ta	0,9	0,1	1,6	0,6	-1,11
Tb	1,2	0,3	1,4	0,5	-0,39
Th	13,7	0,4	14,0	1,0	-0,27
U	3,6	0,3	4,0	0,3	-0,90
Yb	2,7	0,1	3,4	0,6	-1,12
Zn	252,0	81,8	223,0	20,0	0,34

DP – Desvio padrão

Tabela 4.13 – Concentrações e desvios padrão obtidos, valores certificados para o MRC BEN-Basalt e Z-score calculado para cada elemento

Elemento	Concentrações obtidas (mg kg ⁻¹)		Valores certificados (mg kg ⁻¹)		Z
	Média	DP (%)	Valor	DP (%)	
As	0,8	0,3	1,8	0,3	-2,16
Ba	1370,9	113,4	1025,0	30,0	2,95
Co	58,4	2,0	60,0	2,0	-0,55
Cr	371,1	7,0	360,0	12,0	0,80
Eu	3,5	0,2	3,6	0,2	-0,39
Hf	6,5	0,4	5,6	0,2	2,12
La	92,0	12,5	82,0	1,5	0,80
Lu	0,3	0,0	0,2	0,0	1,28
Nd	74,7	10,0	67,0	1,5	0,76
Rb	64,6	7,0	47,0	2,0	2,42
Sc	22,1	0,1	22,0	1,5	0,06
Sm	11,9	0,6	12,2	0,3	-0,42
Ta	5,8	0,0	5,7	0,4	0,22
Tb	1,0	0,2	1,3	0,1	-1,17
Th	10,5	0,1	10,4	0,6	0,09
U	2,4	0,0	2,4	0,2	0,26
Yb	1,8	0,3	1,8	0,2	-0,09
Zn	144,2	67,6	120,0	13,0	0,35

DP – Desvio padrão

4.2 Análise granulométrica dos sedimentos

Os resultados da Análise Granulométrica nas amostras de sedimento são apresentados na Tabela 4.14.

Os pontos ATSG2800, BILL2100, JARI0800, MOCA2300 e RGDE2900, localizados em reservatórios e PARD2590, em rio, apresentaram alto teor de finos (silte e argila) (acima de 80%) e baixa proporção de areia (< 20%), caracterizando ambientes de textura argilosa, onde, devido à grande área superficial, a capacidade

de adsorção tanto de matéria orgânica quanto de metais é maior (Bevilacqua, 1996; Oliveira, 2005). Os pontos LENS3900, PRET2600, RIBE2650, RIJU2800, SAGU2150 e TBIR3400, todos em rios, apresentaram uma composição com maior proporção de areia (> 60%) e menor proporção de silte e argila. O ponto SJDO2150 apresentou uma composição de 55% de areia e o restante em silte e argila (44%).

Tabela 4.14 – Resultados das análises granulométricas dos sedimentos

	Amostra	Areia (%)	Argila (%)	Silte (%)	Classificação textural
Rios	LENS3900	79,18	9,57	11,24	Muito arenosa
	PARD2590	19,62	50,00	30,38	Argilossiltosa
	PRET2600	79,67	13,13	7,19	Muito arenosa
	RIBE2650	67,01	17,81	15,18	Areia-argila-silte
	RIJU2800	72,13	6,78	21,08	Muito arenosa
	SAGU2150	91,54	1,95	6,51	Muito arenosa
	SJDO2150	55,06	25,02	19,92	Areia argilosa
	TBIR3400	87,83	4,05	8,11	Muito arenosa
Reservatórios	ATSG2800	0,19	76,50	23,30	Muito argilosa
	BILL2100	3,14	71,40	25,40	Muito argilosa
	JARI0800	5,10	72,50	22,49	Muito argilosa
	MOCA2300	1,89	66,82	31,29	Argilossiltosa
	RGDE2900	2,66	52,60	44,73	Muito argilosa

4.3 Determinação de elementos metálicos por GF AAS e ICP OES

Os elementos metálicos As, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb foram determinados nas amostras de água e sedimento por GF AAS e ICP OES. Os elementos Cd, Cu, Ni e Pb foram determinados nas amostras de organismos bentônicos por GF AAS. Os resultados estão descritos a seguir.

4.3.1 Determinação de elementos metálicos em amostras de água

Nas amostras de água, os elementos As, Cd e Pb foram determinados pela técnica de GF AAS e os elementos Cr, Cu e Ni foram determinados pela técnica de ICP OES. Os resultados das determinações destes elementos estão apresentados na Tabela 4.15, onde também estão apresentados os limites estipulados pela Resolução 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente para corpos de água doce classe 2 (CONAMA, 2005).

Tabela 4.15 – Concentrações de metais nas amostras de água por ICP OES e GF AAS (mg L⁻¹)

	Amostra	As ¹	Cd ¹	Cr ²	Cu ²	Ni ²	Pb ¹
Rios	LENS3900	N. R.	< 0,005	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005
	PARD2590	N. R.	< 0,005	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005
	PRET2600	N. R.	< 0,005	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005
	RIBE2650	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.
	RIJU2800	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.
	SAGU2150	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.
	SJDO2150	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.
	TBIR3400	N. R.	< 0,005	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005
Reservatórios	ATSG2800	N. R.	< 0,0002	N. R.	N. R.	< 0,02	< 0,005
	BILL2100	N. R.	< 0,0002	< 0,02	< 0,009	< 0,02	< 0,005
	JARI0800	N. R.	< 0,0002	< 0,02	< 0,009	< 0,02	< 0,005
	MOCA2300	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005	< 0,02	< 0,005
	RGDE2900	< 0,005	< 0,0002	< 0,02	< 0,009	< 0,02	< 0,005
	CONAMA	< 0,01	< 0,01	< 0,05	< 0,009	< 0,025	< 0,01

(1) GF AAS; (2) ICP OES; N. R. – Não Realizado

As determinações dos elementos estudados nos pontos RIBE2650, RIJU2800, SAGU2150 e SJDO2150 e as determinações de **As** nos pontos ATSG2800, BILL2100, LENS3900, PARD2590, PRET2600 e TBIR3400 não foram realizadas devido a problemas analíticos.

Nos demais pontos, todos os resultados apresentaram-se inferiores aos limites estipulados pela Resolução 357/2005 do CONAMA, que classifica os corpos d'água superficiais quanto aos seus usos preponderantes. Os valores indicados na tabela são os limites estipulados para corpos d'água classe 2, indicando que os elementos estudados não estão presentes em níveis que possam causar danos a esses corpos d'água.

4.3.2 Determinação de elementos metálicos em amostras de sedimento

Nas amostras de sedimento, os elementos As, Cd e Pb foram determinados pela técnica de GF AAS e os elementos Cr, Cu e Ni foram determinados pela técnica de ICP OES. Os resultados das determinações destes elementos estão apresentados na Tabela 4.16, onde também estão apresentados os valores de TEL e PEL do CCME. Estes valores limites são estabelecidos pela legislação canadense e adotados pela CETESB em seu programa de monitoramento da qualidade dos sedimentos. TEL (Threshold Effect Level) indica o limiar abaixo do qual é rara a ocorrência de efeitos adversos à biota e PEL (Probable Effect Level), o limiar acima do qual é frequente a ocorrência de efeitos adversos a biota (CETESB, 2012).

Quando comparados aos valores de TEL e PEL do CCME, em relação ao **As**, os pontos PARD2590, RIBE2650 e JARI0800 apresentaram concentrações entre estes valores. Desta forma, de acordo com o CCME, nestes pontos espera-se, ocasionalmente, efeito adverso à biota aquática. Já os pontos LENS3900, BILL2100 e RGDE2900 apresentaram concentrações acima do valor de PEL. Nesses pontos é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Em relação ao **Cd**, o ponto RGDE2900 apresentou concentração entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, neste ponto é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já o ponto BILL2100 apresentou concentração acima do valor de PEL. De acordo com o CCME, neste ponto é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Em relação ao **Cr**, os pontos PARD2590, ATSG2800, MOCA2300 e RGDE2900 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, de acordo com o CCME, nestes pontos é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já os pontos PRET2600, SJDO2150 e BILL2100 apresentaram concentrações acima do valor de PEL. Nestes pontos é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Tabela 4.16 – Concentrações de metais nas amostras de sedimento por ICP OES e GF AAS (mg kg⁻¹)

	Amostra	As ¹	Cd ¹	Cr ²	Cu ²	Ni ²	Pb ¹
Reservatórios	LENS3900	17,00	< 0,05	22,00	48,90	11,40	4,96
	PARD2590	8,88	0,08	47,90	67,10	27,60	24,60
	PRET2600	< 2,00	< 0,05	127,30	6,97	13,00	5,98
	RIBE2650	6,15	0,15	33,40	26,20	17,00	93,20
	RIJU2800	< 2,00	0,06	15,60	4,68	9,78	14,00
	SAGU2150	< 2,00	< 0,05	10,80	6,47	9,30	6,61
	SJDO2150	2,94	< 0,05	151,00	8,30	21,50	151,00
	TBIR3400	< 2,00	<0,05	11,10	2,52	4,40	2,68
Rios	ATSG2800	4,24	0,24	70,50	53,00	29,60	29,10
	BILL2100	18,20	3,71	211,00	234,00	103,00	79,40
	JARI0800	6,38	< 0,05	37,20	37,20	16,20	36,90
	MOCA2300	4,92	< 0,05	60,50	22,20	28,20	34,00
	RGDE2900	21,80	0,88	83,10	5639,0	31,60	48,30
	TEL	5,90	0,60	37,30	35,70	18,00	35,00
	PEL	17,00	3,50	90,00	197,00	35,90	91,30

(1) GF AAS; (2) ICP OES

Em relação ao **Cu**, os pontos LENS3900, PARD2590, ATSG2800 e JARI0800 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, nestes pontos é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já os pontos

BILL2100 e RGDE2900 apresentaram concentrações acima do valor de PEL. Nestes pontos é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Em relação ao **Ni**, os pontos PARD2590, SJDO2150, ATSG2800, MOCA2300 e RGDE2900 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, nestes pontos é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já o ponto BILL2100 apresentou concentração acima do valor de PEL. Nestes pontos é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Em relação ao **Pb**, os pontos BILL2100, JARI0800 e RGDE2900 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, de acordo com o CCME, nestes pontos é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já os pontos RIBE2650 e SJDO2150 apresentaram concentrações acima do valor de PEL. De acordo com o CCME, nestes pontos é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

No ponto BILL2100 foram encontradas concentrações acima dos valores de PEL para todos os elementos determinados, com exceção do **Pb**, que apresentou concentração entre os valores de TEL e PEL, sugerindo que neste ponto ocorre uma alta contaminação do sedimento por estes elementos.

No ponto RGDE2900, a concentração de **Cu** encontra-se, aproximadamente 28 vezes acima do valor de PEL, o que sugere uma alta contaminação do sedimento por este metal. Valores extremamente altos para Cu também foram encontrados em estudos anteriores nesse reservatório (BOLSTELMANN, 2006; FRANKLIN, 2010). Esses altos valores se devem, provavelmente, a aplicação de algicidas próximo à área de captação de água para abastecimento público (CETESB, 2005 apud BOLSTELMANN, 2006).

4.3.3 Determinação de elementos metálicos em amostras de invertebrados bentônicos

Nas amostras de invertebrados bentônicos, os elementos Cd, Cu, Ni e Pb foram determinados pela técnica de GF AAS. Os resultados das determinações destes elementos, a descrição e a massa dos organismos analisados estão apresentados nas Tabelas 4.17 a 4.25.

Os limites de quantificação (LQ) dos métodos foram estipulados como o menor ponto da curva de calibração para cada elemento. Para os métodos em questão, os LQs foram $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ para o **Cd**, $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ para o **Pb** e $3,00 \mu\text{g L}^{-1}$ para os elementos **Cu** e **Ni**. Como a massa da amostra não é fixa, variando para cada organismo coletado, não é possível calcular um LQ final para os métodos em $\mu\text{g g}^{-1}$, sendo necessário calcular o LQ para cada organismo.

Os elementos **As** e **Cr** não foram determinados nas amostras de invertebrados bentônicos, pois durante o desenvolvimento das metodologias para determinação destes elementos, não foram obtidos resultados confiáveis de recuperação nos materiais de referência certificados utilizados, sendo necessário dar sequência aos estudos para desenvolvimento das metodologias.

Nos pontos **SJDO2150** e **RIBE2650** não foram encontrados organismos bentônicos para determinação de metais no momento da coleta das amostras de sedimento.

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **LENS3900**, não foram obtidos os elementos **Cd** e **Pb** em concentrações quantificáveis pelo método. Para o **Ni** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em duas amostras de invertebrados, sendo obtidas concentrações de **Ni** somente em duas amostras. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd**, **Pb** e **Ni** abaixo dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Foram obtidas concentrações de **Cu** para todas as amostras de invertebrados, em valores baixos, quando comparados com as massas dos organismos analisados e com os resultados obtidos nas amostras dos demais pontos de coleta. Na amostra de

sedimento deste ponto foi obtida concentração de **Cu** entre os valores de TEL e PEL, o que demonstra que provavelmente não está ocorrendo absorção deste elemento pelos organismos coletados.

Tabela 4.17 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto LENS3900 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
LENS3900	Glossiphonidae R1	30,15	< LQ	< LQ	0,3	< LQ
	Glossiphonidae R2	14,52	< LQ	< LQ	2,5	0,3
	Glossiphonidae R3	6,93	< LQ	< LQ	0,4	< LQ
	Corbicula	1351,37	0,004	< LQ	4,9	0,09

LQ – Limite de Quantificação

Tabela 4.18 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto PARD2590 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
PARD2590	Tanypodinae	1,42	< LQ	< LQ	5,5	< LQ
	Orthoclaadiinae	0,82	< LQ	< LQ	5,6	< LQ
	Chironomus R1	1,47	< LQ	< LQ	5,2	< LQ
	Chironomus R2	0,99	< LQ	< LQ	10,9	2,0
	Chironomus R3	15,73	< LQ	< LQ	2,0	0,2

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **PARD2590**, não foram obtidos os elementos **Cd** e **Pb** em concentrações quantificáveis pelo método. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd** e **Pb** abaixo

dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Para o **Ni** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em três amostras de invertebrados, sendo obtidas concentrações de **Ni** apenas em duas amostras. Para o **Cu**, foram obtidos valores de concentração para todas as amostras. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cu** e **Ni** entre os valores de TEL e PEL, o que demonstra que pode estar ocorrendo absorção destes elementos pelos organismos coletados.

Tabela 4.19 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto PRET2600 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
PRET2600	Corbicula R1	93,18	0,01	< LQ	1,8	0,2
	Corbicula R2	201,2	0,01	< LQ	2,0	0,2
	Corbicula R3	221,2	0,01	0,08	4,6	0,2
	Corbicula R4	344,2	0,01	< LQ	2,3	0,2
	Corbicula R5	490,0	0,01	< LQ	3,0	0,2
	Ancylidae	9,9	0,01	0,4	103,3	1,0

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **PRET2600**, foram obtidos valores de concentrações para os elementos **Cd**, **Cu** e **Ni**. Para o **Pb** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em duas amostras de invertebrados, sendo obtidas concentrações de **Pb** em apenas quatro amostras. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd**, **Pb**, **Cu** e **Ni** abaixo dos valores de TEL, não sendo possível estabelecer uma correlação entre as concentrações destes elementos obtidas nos organismos e no sedimento.

Tabela 4.20 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto RIJU2800 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
RIJU2800	Tanypodinae R1	8,55	< LQ	< LQ	1,3	< LQ
	Tanypodinae R2	7,35	< LQ	< LQ	1,5	0,2
	Chironomini (9 organismos)	2,60	< LQ	4,1	5,2	1,5

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **RIJU2800**, não foi obtido o elemento **Cd** em concentrações quantificáveis pelo método. Na amostra de sedimento deste ponto foi obtida concentração de **Cd** abaixo dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Para o **Pb** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em duas amostras de invertebrados, sendo obtida concentração de **Pb** em uma amostra. Para o **Cu**, foram obtidos valores de concentração para todas as amostras de invertebrados. Para o **Ni** não foi obtida concentração quantificável pelo método em uma amostra de invertebrado, sendo obtidas concentrações de **Ni** em duas amostras. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Pb**, **Cu** e **Ni** abaixo dos valores de TEL, não sendo possível estabelecer uma correlação entre as concentrações destes elementos obtidas nos organismos e no sedimento.

Tabela 4.21 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto SAGU2150 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
SAGU2150	Chironomus R1	13,42	< LQ	< LQ	2,4	0,2
	Chironomus R2	6,54	< LQ	< LQ	3,2	< LQ
	Chironomus R3	7,91	< LQ	< LQ	1,8	< LQ
	Chironomus R4	11,23	< LQ	0,2	2,0	0,2
	Chironomus R5	6,14	< LQ	0,4	4,3	0,4
	Chironomus R6	14,91	< LQ	0,4	2,3	0,2
	Chironomus R7	15,46	< LQ	0,2	1,5	0,2
	Chironomus R8	7,10	< LQ	< LQ	3,6	< LQ
	Chironomus R9	10,26	< LQ	< LQ	2,4	0,1
	Chironomus R10	10,19	< LQ	0,4	1,9	0,2
	Chironomus R11	9,70	< LQ	0,4	3,3	0,2
	Chironomus R12	11,33	< LQ	0,6	2,1	0,3
	Chironomus R13	13,94	< LQ	0,7	2,7	0,4
	Chironomus R14	9,39	< LQ	1,0	4,0	0,7
	Chironomus R15	9,96	< LQ	0,4	2,3	0,3
	Chironomus R16	13,74	< LQ	< LQ	2,1	0,2
	Chironomus R17	9,94	< LQ	< LQ	2,0	< LQ
	Chironomus R18	6,36	< LQ	0,7	3,2	0,4
	Chironomus R19	7,63	< LQ	< LQ	1,8	0,2
	Chironomus R20	9,24	< LQ	< LQ	1,7	0,2
	Chironomus R21	16,14	< LQ	< LQ	1,2	< LQ
	Chironomus R22	4,65	< LQ	2,4	5,3	1,5
	Chironomus R23	9,73	< LQ	< LQ	2,4	0,4
	Chironomus R24	6,60	< LQ	1,1	3,0	0,6
Glossiphoniidae R1	127,46	0,003	< LQ	0,4	< LQ	
Glossiphoniidae R2	8,18	< LQ	< LQ	0,6	< LQ	
Glossiphoniidae R3	234,65	< LQ	0,4	11,2	0,4	

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **SAGU2150**, não foi obtido o elemento **Cd** em concentrações quantificáveis pelo método, com exceção de uma amostra, na qual foi obtido o elemento **Cd** em valores baixos de concentração, quando comparados com a massa do organismo analisado. Na amostra de sedimento deste ponto foi obtida concentração de **Cd** abaixo dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Para o **Pb** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em treze amostras de invertebrados, sendo obtidas concentrações de **Pb** em quatorze amostras. Para o **Cu**, foram obtidos valores de concentração para todas as amostras de invertebrados. Para o **Ni** não foram obtidas concentrações quantificáveis pelo método em sete amostras de invertebrados, sendo obtidas concentrações de **Ni** em vinte amostras. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Pb**, **Cu** e **Ni** abaixo dos valores de TEL, não sendo possível estabelecer uma correlação entre as concentrações destes elementos obtidas nos organismos e no sedimento.

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **TBIR3400**, não foi obtido o elemento **Cd** em concentrações quantificáveis pelo método. Na amostra de sedimento deste ponto foi obtida concentração de **Cd** abaixo dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Para o **Pb**, **Cu** e **Ni**, foram obtidos valores de concentração para todas as amostras de invertebrados, com exceção de três amostras que o resultado de **Pb** ficou abaixo do limite de quantificação e uma amostra em que o resultado de **Ni** ficou abaixo do limite de quantificação. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Pb**, **Cu** e **Ni** abaixo dos valores de TEL, não sendo possível estabelecer uma correlação entre as concentrações destes elementos obtidas nos organismos e no sedimento.

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **ATSG2800** foram obtidos os elementos **Cd** e **Pb** em concentrações quantificáveis pelo método, com exceção de três amostras, que apresentaram concentrações de **Pb**. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd** e **Pb** abaixo dos valores de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos. Para o **Cu** e **Ni**, foram obtidos valores de concentração para todas as amostras de invertebrados, com exceção de uma amostra que o resultado de **Ni** ficou abaixo do limite de quantificação. Na

amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cu** e **Ni** entre os valores de TEL e PEL, o que demonstra que pode estar ocorrendo absorção destes elementos pelos organismos coletados. Apesar de não existir valores orientadores para elementos metálicos em organismos bentônicos, as concentrações de **Cu** obtidas apresentaram valores elevados, quando comparados aos resultados obtidos para os outros elementos e, principalmente, quando comparados às concentrações de **Cu** obtidas nas amostras dos demais pontos coletados.

Tabela 4.22 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto TBIR3400 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
TBIR3400	Chironomus R1	7,11	< LQ	0,6	1,6	0,6
	Chironomus R2	12,65	< LQ	0,9	2,2	1,0
	Chironomus R3	12,45	< LQ	< LQ	1,6	0,3
	Chironomus R4	5,87	< LQ	1,0	3,4	1,1
	Chironomus R5	9,09	< LQ	1,2	2,4	1,3
	Chironomus R6	6,57	< LQ	0,5	4,2	4,2
	Chironomus R7	10,83	< LQ	0,8	2,8	0,9
	Chironomus R8	8,07	< LQ	0,6	3,6	0,9
	Chironomus R9	5,84	< LQ	1,3	5,1	1,1
	Chironomus R10	11,31	< LQ	1,0	2,4	0,7
	Chironomus R11	6,88	< LQ	1,1	2,2	0,7
	Chironomus R12	4,64	< LQ	0,7	3,3	0,8
	Chironomus R13	9,54	< LQ	0,8	2,4	0,8
	Chironomus R14	4,10	< LQ	0,3	1,4	< LQ
	Chironomus R15	6,12	< LQ	1,3	2,8	1,0
	Chironomus R16	8,47	< LQ	0,9	2,0	0,7
	Chironomus R17	2,47	< LQ	< LQ	2,0	0,7
	Chironomus R18	4,88	< LQ	< LQ	1,8	0,5
	Chironomus R19	1,95	< LQ	1,6	4,6	1,8
	Gomphidae (gênero Aphilla)	132,55	< LQ	0,2	2,7	0,4

LQ – Limite de Quantificação

Tabela 4.23 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto ATSG2800 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
ATSG2800	Dero R1 (5 organismos)	0,64	< LQ	< LQ	50,0	5,8
	Dero R2 (5 organismos)	1,07	< LQ	2,8	39,2	3,3
	Dero R3 (5 organismos)	0,79	< LQ	< LQ	39,0	4,0
	Dero R4 (5 organismos)	0,67	< LQ	< LQ	65,0	5,3
	Dero R5 (5 organismos)	0,86	< LQ	< LQ	35,4	4,0
	Ospistocystidae R1 (5 organismos)	0,16	< LQ	< LQ	136,0	11,2
	Ospistocystidae R2 (5 organismos)	0,14	< LQ	< LQ	137,2	12,4
	Ospistocystidae R3 (5 organismos)	0,36	< LQ	< LQ	54,8	6,7
	Ospistocystidae R4 (5 organismos)	0,40	< LQ	< LQ	86,4	6,6
	Ospistocystidae R5 (5 organismos)	0,25	< LQ	< LQ	69,9	7,7
	Aulodrilus R1 (5 organismos)	0,34	< LQ	< LQ	106,9	5,2
	Aulodrilus R2 (5 organismos)	0,34	< LQ	< LQ	98,4	5,7
	Aulodrilus R3 (5 organismos)	0,29	< LQ	10,9	134,3	7,8
	Aulodrilus R4 (5 organismos)	0,22	< LQ	< LQ	129,5	< LQ
	Aulodrilus R5 (5 organismos)	0,30	< LQ	10,1	137,0	6,9

LQ – Limite de Quantificação

No ponto **BILL2100** foi coletado apenas um organismo, um Chironomini de massa 1,13 mg, no qual não foram obtidos os elementos **Cd**, **Pb** e **Ni** em concentrações quantificáveis pelo método. Para o **Cu** foi obtida concentração de

3,95 $\mu\text{g g}^{-1}$. Na amostra de sedimento deste ponto foi obtida concentração de **Pb** entre os valores de TEL e PEL do CCME e de **Cd**, **Cu** e **Ni** acima do valor de PEL.

No ponto **JARI0800** foram coletados dois organismos. Um Chironomini de massa 2,44 mg, no qual não foi obtido o elemento **Pb** em concentração quantificável pelo método. Para os elementos **Cd**, **Cu** e **Ni** foram obtidas concentrações de 0,076 $\mu\text{g g}^{-1}$, 4,864 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,561 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. No outro organismo, também um Chironomini de massa 27,29 mg, foram obtidos os elementos **Cd**, **Pb**, **Cu** e **Ni** com concentrações de 0,025 $\mu\text{g g}^{-1}$, 0,867 $\mu\text{g g}^{-1}$, 3,493 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,716 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd** e **Ni** abaixo dos valores de TEL do CCME e de **Pb** e **Cu** entre os valores de TEL e PEL.

Tabela 4.24 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto MOCA2300 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
MOCA2300	Corbicula R1 - Prof	858,08	0,05	0,2	4,7	0,3
	Corbicula R2 - Prof	1600,75	0,06	< LQ	10,5	0,3
	Corbicula R1 - SL	1006,63	0,04	< LQ	4,6	0,2
	Corbicula R2 - SL	873,30	0,04	0,1	3,9	0,3
	Corbicula R3 - SL	1362,82	0,05	0,08	6,2	0,2
	Corbicula R4 - SL	1435,24	0,06	0,08	5,6	0,2
	Chironomini R1	14,54	0,009	1,0	4,0	1,0
	Chironomini R2	27,29	0,02	0,9	3,5	0,7

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **MOCA2300**, foram obtidos valores de concentrações para os quatro elementos determinados, com exceção de duas amostras, em que os resultados de **Pb** ficaram abaixo dos limites de quantificação do método. Foram obtidas concentrações destes elementos em

valores baixos, quando comparados com as massas dos organismos analisados e com os resultados obtidos nas amostras dos demais pontos de coleta. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd**, **Pb** e **Cu** abaixo do valor de TEL do CCME, confirmando os resultados obtidos e de **Cu** entre os valores de TEL e PEL, o que demonstra que provavelmente não está ocorrendo absorção de **Ni** pelos organismos coletados.

Tabela 4.25 – Concentrações de metais nas amostras de invertebrados bentônicos por GF AAS no ponto RGDE2900 ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Amostra	Descrição	Massa (mg)	Cd	Pb	Cu	Ni
RGDE2900	Chironomus R1	14,47	0,05	0,5	33,6	0,2
	Chironomus R2	9,34	0,04	0,7	33,8	0,3
	Chironomus R3	10,15	0,04	1,1	65,4	0,5
	Chironomus R4	6,30	0,03	1,4	58,7	0,5
	Chironomus R5	8,64	0,02	0,8	45,9	0,5
	Chironomus R6	12,12	0,04	0,7	49,2	0,5
	Chironomus R7	13,40	0,04	0,7	36,0	0,4
	Chironomus R8	8,03	0,03	1,2	68,0	1,0
	Chironomus R9	11,56	0,06	0,4	24,8	0,4
	Chironomus R10	8,28	0,04	0,9	52,6	0,6
	Chironomus R11	17,61	0,24	0,7	35,4	0,5
	Chironomus R12	13,65	0,01	0,5	31,3	0,4
	Chironominii	4,78	< LQ	< LQ	8,5	< LQ

LQ – Limite de Quantificação

Nas amostras de invertebrados coletadas no ponto **RGDE2900**, foram obtidos valores de concentrações para os quatro elementos determinados, com exceção de uma amostra, em que os resultados de **Cd**, **Pb** e **Ni** ficaram abaixo dos limites de quantificação do método. Na amostra de sedimento deste ponto foram obtidas concentrações de **Cd**, **Pb** e **Ni** entre os valores de TEL e PEL e de **Cu** acima do

valor de PEL, o que demonstra que pode estar ocorrendo absorção destes elementos pelos organismos coletados.

4.4 Caracterização multielementar de sedimentos por Análise por Ativação Neutrônica (NAA)

Na Tabela 4.26 estão apresentadas as médias e desvios padrão dos resultados obtidos por NAA nas amostras de sedimento, em mg kg^{-1} , além dos valores de referência do NASC (North American Shale Composite) (TAYLOR & McLENNAN, 1985) e os valores de TEL e PEL do CCME (Canadian Council of Minister of the Environment) (CCME, 2001). Os valores estão expressos na base seca e correspondem à concentração total dos elementos presente na amostra.

Quando comparados aos valores de TEL e PEL do CCME, em relação ao **As**, o ponto RIBE2650 apresentou concentração entre estes valores. Desta forma, de acordo com o CCME, neste ponto é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Já os pontos RGDE2900 e BILL2100 apresentaram concentrações acima do valor de PEL. De acordo com o CCME, neste ponto é esperado efeito adverso à biota aquática. Os demais pontos apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Em relação ao **Cr**, os pontos ATSG2800, RIBE2650, MOCA2300, PARD2590, JARI0800, RIJU2800 e SAGU2150 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL. Desta forma, nestes pontos é ocasionalmente esperado efeito adverso à biota aquática. Nos pontos LENS3900, PRET2600, SJDO2150, TBIR3400, RGDE2900 e BILL2100 as concentrações apresentaram-se acima do valor de PEL. Desta forma, de acordo com o CCME, nestes pontos é esperado efeito adverso à biota aquática.

Em relação ao **Zn**, os pontos ATSG2800, RIBE2650, LENS3900, MOCA2300, PARD2590, RGDE2900, e SAGU2150 apresentaram concentrações entre os valores de TEL e PEL, podendo-se esperar, ocasionalmente, efeito adverso à biota aquática. No ponto BILL2100 a concentração apresentou-se acima do valor de PEL,

esperando-se efeito adverso à biota aquática. Os pontos PRET2600, SJDO2150, TBIR3400, JARI0800 e RIJU2800 apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

A partir dos resultados de concentração obtidos pela técnica de NAA, calculou-se o fator de enriquecimento (FE) para as amostras de sedimento, utilizando o **Sc** como elemento normalizador (item 3.4.5.6). Os valores de referência utilizados para sedimento no presente estudo foram os valores de referência do NASC (Tab. 4.25). Segundo ZHANG & LIU (2002), se $0,5 < FE < 1,5$, é provável que a concentração do elemento seja inteiramente devido à formação da crosta ou originário de intemperismos naturais. Valores acima 1,5 indicam contribuições antrópicas. Quanto maior o valor do FE, mais grave é a contribuição antrópica. Os valores de FE calculados para as amostras de sedimento estão apresentados na Tabela 4.27.

Os valores de $FE > 1,5$ selecionados na tabela indicam valores mais enriquecidos para os elementos **As, Br, Cr, Hf, Ta, Th, U e Zn** e os elementos terras raras (ETR) **Ce, Eu, La, Nd, Sm, Tb e Yb**. Nesses casos, parece estar havendo contribuição antrópica para esses elementos.

Os maiores valores de FE foram encontrados para **As, Br e Hf**, principalmente nos pontos TBIR3400, RGE3900, RIJU2800 E SAGU2100. Os maiores valores para os ETR também se encontraram, principalmente, nesses pontos.

Os demais valores se encontraram distribuídos entre $FE < 0,5$ e $0,5 < FE < 1,5$ indicando ausência de enriquecimento, ou seja, contribuição crustal.

Tabela 4.26 – Determinações por NAA nos sedimentos (mg kg⁻¹): média, desvio padrão, valores do NASC, TEL e PEL

	LENS 3900	PARD 2590	PRET 2600	RIBE 2650	RIJU 2800	SAGU 2150	SJDO 2150	TBIR 3400	ATSG 2800	BILL 2100	JARI 0800	MOCA 2600	RGDE 2900	NASC	TEL	PEL
As	2,9 ± 0,2	3,6 ± 0,1	3,5 ± 0,4	10,4 ± 0,5	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,1 ± 0,2	3,8 ± 0,7	18,4 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,9 ± 0,2	21,7 ± 1,0	2,0	5,9	17,0
Ba	161 ± 23	538 ± 21	283 ± 24	847 ± 36	795 ± 35	706 ± 32	700 ± 29	457 ± 24	491 ± 81	401 ± 21	576 ± 31	663 ± 37	523 ± 30	636		
Br	3,5 ± 0,4	4,5 ± 0,2	2,5 ± 0,5	6,4 ± 0,7	11,6 ± 1,2	7,8 ± 0,8	2,8 ± 0,2	1,4 ± 0,2	6,5 ± 0,3	38,0 ± 1,7	7,6 ± 0,8	4,8 ± 0,3	24,0 ± 2,5	0,69		
Ca(%)	12,3 ± 0,2	5,1 ± 0,1	3,7 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,67 ± 0,04	1,47 ± 0,04	3,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1	0,40 ± 0,03	1,4 ± 0,1	1,32 ± 0,04	1,3 ± 0,1	1,53 ± 0,04	2,59		
Ce	81,2 ± 1,7	158 ± 6	179 ± 5	141 ± 5	194 ± 8	235 ± 9,3	181 ± 10	96,1 ± 4,5	135 ± 17	137 ± 5	230 ± 8	196 ± 8	79,2 ± 1,7	73		
Co	56,0 ± 1,0	32,4 ± 0,5	11,7 ± 0,3	20,8 ± 0,4	11,2 ± 0,2	15,7 ± 0,3	27,5 ± 0,5	9,2 ± 0,1	19,1 ± 0,6	15,8 ± 0,3	13,4 ± 0,24	18,2 ± 0,3	9,4 ± 0,2	28		
Cr	144 ± 5	79,7 ± 3,2	365 ± 18	79,8 ± 0,4	40,7 ± 1,4	86,9 ± 2,9	441 ± 14,0	187 ± 4,9	81,1 ± 9,8	224 ± 7	53,2 ± 1,9	85,6 ± 2,2	115 ± 4	125	37,3	90,0
Cs	0,82 ± 0,22	1,9 ± 0,2	1,4 ± 0,2	3,7 ± 0,2	5,2 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	5,5 ± 0,2	4,7 ± 0,3	3,1 ± 0,2	4,5 ± 0,2	8,8 ± 0,5	5,2		
Eu	1,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,6 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	4,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1	2,26 ± 0,03	1,2 ± 0,1	3,2 ± 0,2	2,5 ± 0,1	0,82 ± 0,02	1,24		
Fe(%)	16,1 ± 0,1	10,2 ± 0,1	3,9 ± 0,1	5,5 ± 0,1	4,16 ± 0,04	5,2 ± 0,1	6,9 ± 0,1	2,14 ± 0,02	6,3 ± 0,2	7,7 ± 0,1	6,1 ± 0,1	5,6 ± 0,1	8,2 ± 0,1	4		
Hf	36,9 ± 1,0	15,9 ± 0,3	14,6 ± 0,5	27,0 ± 0,9	45,2 ± 1,5	65,7 ± 2,1	23,5 ± 0,4	51,3 ± 1,0	3,4 ± 0,2	4,4 ± 0,1	6,9 ± 0,2	4,1 ± 0,1	6,9 ± 0,2	6,3		
La	34,7 ± 0,5	74,2 ± 0,8	162 ± 2	70,1 ± 1,0	87,7 ± 1,2	113 ± 2	167 ± 2	43,3 ± 0,6	84,8 ± 2,4	61,2 ± 0,7	112 ± 1,5	90,5 ± 1,3	27,0 ± 0,4	32		

Lu	0,68 ± 0,06	0,55 ± 0,03	0,41 ± 0,05	0,49 ± 0,04	1,3 ± 0,1	0,89 ± 0,07	0,78 ± 0,05	0,87 ± 0,06	0,46 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,46 ± 0,04	0,48		
Na	670 ± 15	1166 ± 19	378 ± 18	7054 ± 43	8928 ± 80	2053 ± 44	888 ± 16	902 ± 20	696 ± 24	817 ± 13	267 ± 10	937 ± 20	1062 ± 23	7500		
Nd	42,3 ± 2,9	57,3 ± 3,1	153 ± 8	53,3 ± 2,6	75,0 ± 4,9	73,6 ± 2,8	124 ± 7	50,1 ± 2,7	69,4 ± 9,0	39,2 ± 2,4	108 ± 6	73,7 ± 3,2	25,7 ± 1,8	27,4		
Rb	N. D.	45,4 ± 3,1	18,0 ± 1,9	77,2 ± 3,5	146 ± 6	88,3 ± 3,8	67,1 ± 3,9	39,8 ± 1,8	82,1 ± 4,9	46,2 ± 3,0	49,1 ± 2,8	90,7 ± 3,5	92,4 ± 4,9	125		
Sb	0,33 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,51 ± 0,05	0,81 ± 0,22	0,14 ± 0,03	0,50 ± 0,05	0,43 ± 0,05	0,42 ± 0,03	0,72 ± 0,04	5,3 ± 0,6	0,13 ± 0,03	0,29 ± 0,03	1,1 ± 0,3	2,09		
Sc	34,7 ± 0,9	27,2 ± 0,7	16,2 ± 0,6	15,0 ± 0,4	14,4 ± 0,4	15,1 ± 0,4	24,2 ± 0,6	6,2 ± 0,2	18,7 ± 1,1	17,8 ± 0,4	18,8 ± 0,5	19,5 ± 0,4	21,3 ± 0,5	15		
Sm	6,4 ± 0,1	11,7 ± 0,2	18,3 ± 0,4	9,7 ± 0,3	15,5 ± 0,5	14,2 ± 0,5	20,7 ± 0,4	7,5 ± 0,2	11,2 ± 0,1	5,3 ± 0,6	12,7 ± 0,3	12,7 ± 0,2	3,3 ± 0,1	5,7		
Ta	6,0 ± 0,4	2,7 ± 0,2	5,7 ± 0,5	2,1 ± 0,2	3,3 ± 0,3	2,2 ± 0,2	7,9 ± 0,2	2,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	2,4 ± 0,3	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,1		
Tb	0,61 ± 0,12	1,6 ± 0,2	0,72 ± 0,11	0,92 ± 0,09	2,1 ± 0,2	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,85		
Th	9,3 ± 0,3	13,4 ± 0,3	16,5 ± 0,7	16,0 ± 0,5	43,4 ± 1,2	41,8 ± 1,2	28,4 ± 0,6	14,7 ± 0,4	19,4 ± 1,5	21,8 ± 0,5	20,2 ± 0,6	22,1 ± 0,5	21,3 ± 0,6	12		
U	3,3 ± 0,2	2,9 ± 0,2	5,1 ± 0,4	3,9 ± 0,2	11,5 ± 0,7	8,4 ± 0,5	4,7 ± 0,2	4,1 ± 0,2	4,4 ± 0,2	5,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	3,5 ± 0,2	5,5 ± 0,4	2,7		
Yb	3,9 ± 0,2	3,4 ± 0,2	5,5 ± 0,3	3,1 ± 0,2	7,7 ± 0,4	5,5 ± 0,3	5,0 ± 0,2	4,9 ± 0,2	2,6 ± 0,2	2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,5 ± 0,2	3,1		
Zn	194 ± 8	166 ± 6	62,5 ± 3,6	156 ± 6	104 ± 4,2	150 ± 6	53,8 ± 2,8	49,9 ± 2,0	157 ± 6	583 ± 21	93,2 ± 3,9	137 ± 5	131 ± 5	85	123	315

N. D. – não determinado

Tabela 4.27 – Fator de enriquecimento (FE) para as amostras de sedimento

	LENS 3900	PARD 2590	PRET 2600	RIBE 2650	RIJU 2800	SAGU 2150	SJDO 2150	TBIR 3400	ATSG 2800	BILL 2100	JARI 0800	MOCA 2600	RGDE 2900
As	0,63	1,00	1,62	5,19	0,38	0,46	0,79	2,62	1,54	7,78	1,02	0,71	7,64
Ba	0,11	0,47	0,41	1,33	1,30	1,10	0,68	1,73	0,62	0,53	0,72	0,80	0,58
Br	2,21	3,62	3,36	9,23	17,59	11,30	2,48	4,75	7,60	46,54	8,75	5,30	24,56
Ca	2,06	1,08	1,32	0,93	0,67	0,57	0,88	1,79	0,12	0,47	0,41	0,38	0,42
Ce	0,48	1,19	2,27	1,93	2,77	3,21	1,54	3,17	1,48	1,58	2,51	2,06	0,77
Co	0,87	0,64	0,39	0,74	0,42	0,56	0,61	0,79	0,55	0,48	0,38	0,50	0,24
Cr	0,50	0,35	2,70	0,64	0,34	0,69	2,19	3,60	0,52	1,51	0,34	0,53	0,65
Cs	0,07	0,20	0,26	0,72	1,05	0,53	0,29	0,63	0,85	0,77	0,47	0,67	1,19
Eu	0,67	1,35	1,96	1,55	1,51	1,42	2,47	2,13	1,46	0,84	2,07	1,53	0,47
Fe	1,74	1,40	0,91	1,37	1,09	1,29	1,07	1,29	1,27	1,63	1,22	1,07	1,45
Hf	2,53	1,39	2,14	4,28	7,48	10,38	2,31	19,64	0,44	0,58	0,87	0,50	0,77
La	0,47	1,28	4,68	2,19	2,86	3,50	3,24	3,26	2,12	1,62	2,78	2,17	0,59
Lu	0,61	0,63	0,79	1,01	2,75	1,85	1,01	4,38	0,77	0,69	0,53	0,63	0,68
Na	0,04	0,09	0,05	0,94	1,24	0,27	0,07	0,29	0,07	0,09	0,03	0,10	0,10
Nd	0,67	1,15	5,16	1,94	2,85	2,67	2,80	4,41	2,03	1,21	3,14	2,06	0,66
Rb	N. D.	0,20	0,13	0,62	1,23	0,70	0,33	0,77	0,53	0,31	0,31	0,56	0,52
Sb	0,07	0,10	0,23	0,39	0,07	0,24	0,13	0,48	0,28	2,13	0,05	0,11	0,37
Sc	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sm	0,49	1,13	2,97	1,70	2,84	2,48	2,25	3,16	1,58	0,78	1,78	1,70	0,41
Ta	2,31	1,32	4,72	1,83	3,10	1,95	4,35	4,85	0,99	1,80	0,75	1,19	1,47
Tb	0,31	1,02	0,79	1,08	2,62	1,73	1,61	3,65	1,04	1,25	0,94	1,59	0,75
Th	0,34	0,62	1,27	1,33	3,77	3,46	1,47	2,96	1,30	1,53	1,34	1,41	1,25
U	0,52	0,60	1,73	1,45	4,45	3,11	1,08	3,67	1,30	1,72	0,80	1,00	1,43
Yb	0,54	0,60	1,64	0,99	2,61	1,76	0,99	3,83	0,68	0,58	0,51	0,70	0,57
Zn	0,99	1,07	0,68	1,84	1,27	1,75	0,39	1,41	1,49	5,79	0,87	1,24	1,09

N. D. – não determinado; FE > 1,5

4.5 Teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

O teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* foi realizado em três das treze amostras de água coletadas e na água intersticial das treze amostras de sedimento coletadas. Foi calculado o CE20, que é a concentração da amostra testada que causa 20% de diminuição na emissão de luz da bactéria. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 4.28.

Tabela 4.28 – Resultados do teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* nas amostras de água e sedimento, em CE20 (%)

Amostra	Água CE20 (%)	Sedimento CE20 (%)
LENS3900	N. T.	43,7
PARD2590	N. R.	33,2
PRET2600	N. R.	N. T.
RIBE2650	N. R.	N. T.
RIJU2800	N. T.	79,7
SAGU2150	N. R.	N. T.
SJDO2150	N. R.	12,0
TBIR3400	N. T.	1,0
ATSG2800	N. R.	N. T.
BILL2100	N. R.	43,8
JARI0800	N. R.	60,7
MOCA2300	N. R.	N. T.
RGDE2900	N. R.	7,3

N. T. – Não Tóxica; N. R. – Não Realizado

Para melhor compreensão do nível de toxicidade das amostras, estas foram classificadas utilizando o sistema de classificação adotado pela CETESB em seus programas de monitoramento. Neste sistema os resultados do teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* são classificados em quatro classes, adaptadas de COLEMAN & QURESHI (1985), utilizando os valores de CE20 obtidos (CETESB, 2012). A Tabela 4.29 apresenta a classificação utilizada.

Foram testadas as amostras de água dos pontos **TBIR3400**, **LENS3900** e **RIJU2800**. Não foi detectada toxicidade aguda para a bactéria, nas condições do teste, em nenhuma amostra de água testada.

Para as amostras de água intersticial dos sedimentos coletados, não foi detectada toxicidade aguda nas amostras **ATSG2800**, **PRET2600**, **MOCA2300**, **SAGU2150** e **RIBE2650**. Quando comparado com os resultados de metais nos

sedimentos, o ponto **ATSG2800** apresentou concentrações de **Cu**, **Ni** e **Cr** entre os valores de TEL e PEL do CCME; o ponto **PRET2600**, concentração de **Cr** acima do valor de PEL. O ponto **MOCA2300** apresentou concentrações de **Ni** e **Cr** entre os valores de TEL e PEL e o ponto **RIBE2650**, concentração de **As** entre os valores de TEL e PEL. Nestes casos, os resultados indicam a probabilidade de estes elementos, apesar de estarem presentes nos sedimentos, não estarem disponíveis na água intersticial para causarem toxicidade para a bactéria. No ponto **SAGU2150** todos os elementos testados apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL.

Tabela 4.29 – Classificação do teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

Categoria	Ponderação
Não Tóxica	CE20 > 81,9%
Moderadamente Tóxica	50% < CE20 < 81,9%
Tóxica	25% < CE20 < 50%
Muito Tóxica	CE20 ≤ 25%

As amostras dos pontos **JARI0800** e **RIJU2800** foram classificadas como **moderadamente tóxicas**. Quando comparado com os resultados de metais nos sedimentos, o ponto **JARI0800** apresentou concentrações de **Pb**, **Cu** e **As** entre os valores de TEL e PEL, indicando que a toxicidade observada pode estar relacionada com estes metais presentes no sedimento. Já o ponto **RIJU2800** apresentou concentrações abaixo dos valores de TEL para todos os elementos, o que sugere que a toxicidade observada provavelmente está relacionada com outras substâncias presentes no sedimento.

As amostras dos pontos **BILL2100**, **PARD2590** e **LENS3900** foram classificadas como **tóxicas**. Quando comparado com os resultados de metais nos sedimentos, o ponto **BILL2100** apresentou concentração de **Pb** entre os valores de TEL e PEL e de **Cd**, **Cu**, **Ni**, **As** e **Cr** acima dos valores de PEL; o ponto **PARD2590**

apresentou concentrações de **Cu**, **Ni**, **As** e **Cr** entre os valores de TEL e PEL e o ponto **LENS3900** apresentou concentração de **Cu** entre os valores de TEL e PEL e de **As** acima dos valores de PEL, indicando que a toxicidade observada nestes pontos pode estar relacionada com os metais presentes no sedimento.

As amostras dos pontos **RGDE2900**, **TBIR3400** e **SJDO2150** foram classificadas como **muito tóxicas**. Quando comparado com os resultados de metais nos sedimentos, o ponto **RGDE2900** apresentou concentrações de **Cd**, **Pb**, **Ni** e **Cr** entre os valores de TEL e PEL e de **Cu** e **As** acima dos valores de PEL, sendo a concentração de **Cu** aproximadamente 28 vezes superior ao valor de PEL . O ponto **SJDO2150** apresentou concentração de **Ni** entre os valores de TEL e PEL e de **Cr** acima dos valores de PEL, indicando que a toxicidade observada nestes pontos pode estar relacionada com os metais presentes no sedimento. Já o ponto **TBIR3400** apresentou concentrações abaixo dos valores de TEL para todos os elementos, o que sugere que a toxicidade observada provavelmente está relacionada com outras substâncias presentes no sedimento.

4.6 Avaliação da comunidade bentônica dos sedimentos

A avaliação da comunidade bentônica foi realizada pelo Setor de Comunidades Aquáticas da CETESB nas amostras de sedimento dos treze pontos estudados, pertencentes à Rede de Monitoramento de Sedimentos. Para uma melhor visualização dos resultados obtidos a CETESB faz uso do Índice da Comunidade Bentônica (ICB) para classificar a qualidade dos sedimentos em relação à avaliação da comunidade bentônica. Os organismos bentônicos coletados, após serem triados, foram identificados utilizando as chaves de Righi (1984), Lopretto & Tell (1995, tomos II e III), Brinkhurst & Marchese (1992) e Fernández & Domínguez (2001), Calor (2007), Pinho (2008), Mariano (2007), Trivinho-Strixino (2011), Segura et al. (2011) apud CETESB, 2012. A partir dos resultados foram calculados índices descritores da estrutura das comunidades bentônicas. O ICB é calculado a partir da compilação destes índices em índices

multimétricos, adequados a cada tipo de ambiente (CETESB, 2011) e classificado em cinco categorias: Ótima, Boa, Regular, Ruim e Péssima.

Na Tabela 4.30 apresenta-se a classificação da comunidade bentônica do sedimento dos pontos estudados.

Dos treze pontos analisados, apenas o ponto **RGDE2900** teve classificação Ruim, na amostra coletada na região profunda do reservatório. Oito pontos foram classificados como Regular: **BILL2100**, nas regiões profunda e sublitoral; **PARD2590**; **PRET2600**; **TBIR3400**; **SAGU2150**; **RIJU2800** e **SJDO2150**. O ponto **MOCA2300** foi classificado com qualidade Boa na região profunda e Regular na sublitoral. O ponto **JARI0800** foi classificado com qualidade Regular na região profunda e Boa na sublitoral. Apenas dois pontos foram classificados com qualidade Boa, os pontos **LENS 3900** e **RIBE2650**.

Tabela 4.30 – Avaliação da comunidade bentônica nas amostras de sedimento

Amostra	Profunda	Sublitoral
ATSG2800	Regular	N. R.
BILL2100	Regular	Regular
RGDE2900	Ruim	Regular
PARD2590	Regular	----
PRET2600	Regular	----
TBIR3400	Regular	----
LENS3900	Boa	----
MOCA2300	Boa	Regular
JARI0800	Regular	Boa
SAGU2150	Regular	----
RIJU2800	Regular	----
SJDO2150	Regular	----
RIBE2650	Boa	----

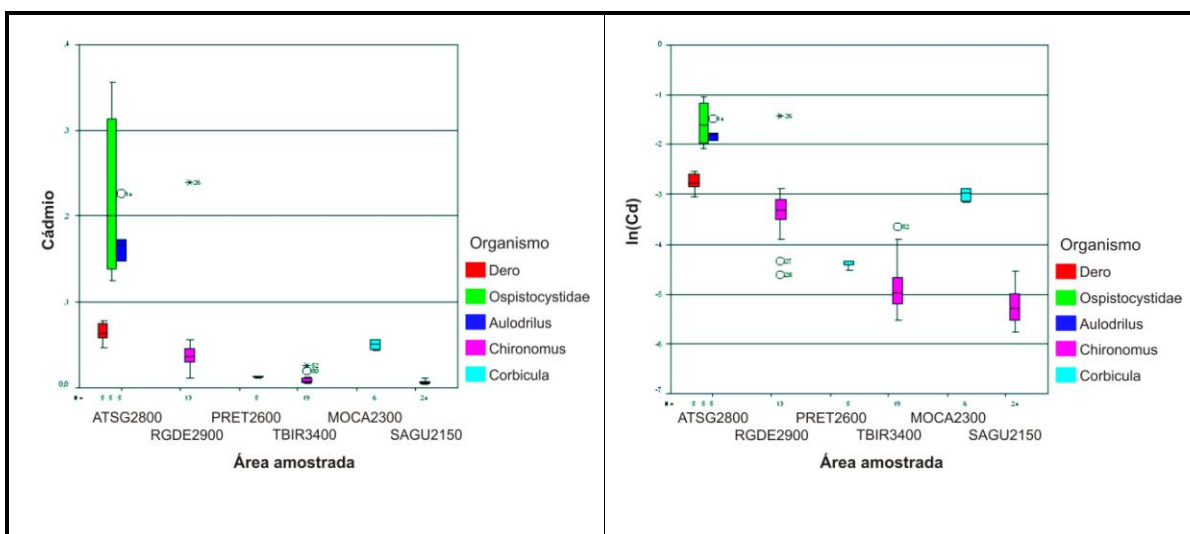
N. R. – Não Realizado

4.7 Tratamento estatístico dos dados de concentração de metais – análise estatística multivariada

Na Figura 4.2 estão apresentados os gráficos de **BoxPlot** para as concentrações de metais nos organismos, segundo a área amostrada. Nela está apontada a situação antes e depois da transformação logarítmica aplicada.

A transformação se mostrou adequada aos objetivos (reduzir a variabilidade e a assimetria das distribuições de frequência).

Através da observação dos dados transformados, pode-se visualizar indícios de comportamento diferenciado para a área de amostragem ATSG2800, porém os organismos encontrados nessa área não foram encontrados nos demais pontos, o que impossibilita a confirmação. Nesse ponto 3 organismos foram encontrados, fato que permite a comparação entre os organismos.



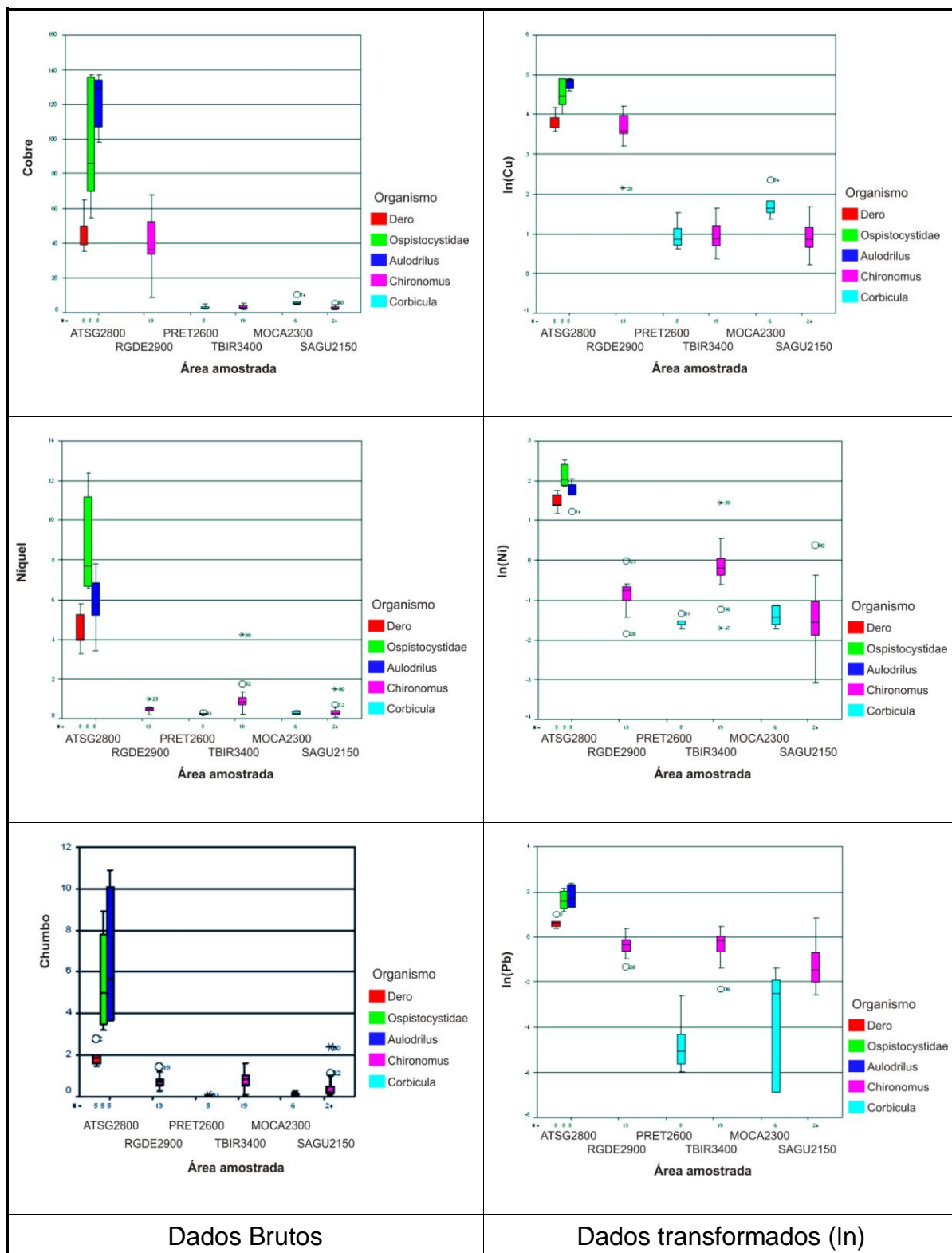


Figura 4.2 – Diagramas BoxPlot para as concentrações de metais nos organismos: dados originais e transformados.

Na Tabela 4.31 estão apresentadas as estatísticas descritivas para os dados transformados de concentração de metais nos organismos segundo a área de amostragem.

Tabela 4.31 – Estatísticas descritivas de metais nos organismos segundo a área amostrada

Metal	Organismos	Área amostrada	Média	desvio	N
ln(Cu)	<i>Dero</i>	ATSG2800	3,80	0,25	5
	<i>Ospistocystadae</i>	ATSG2800	4,51	0,41	5
	<i>Aulodrilus</i>	ATSG2800	4,79	0,15	5
	<i>Chironomus</i>	RGDE2900	3,63	0,54	13
		TIBR3400	0,94	0,37	19
		SAGU2150	0,90	0,35	24
	<i>Corbicula</i>	PRET2600	0,96	0,37	5
MOCA2300		1,72	0,35	6	
ln(Ni)	<i>Dero</i>	ATSG2800	1,47	0,23	5
	<i>Ospistocystadae</i>	ATSG2800	2,15	0,30	5
	<i>Aulodrilus</i>	ATSG2800	1,72	0,32	5
	<i>Chironomus</i>	RGDE2900	-0,87	0,44	13
		TIBR3400	-0,19	0,64	19
		SAGU2150	-1,50	0,76	24
	<i>Corbicula</i>	PRET2600	-1,56	0,14	5
MOCA2300		-1,41	0,27	6	
ln(Cd)	<i>Dero</i>	ATSG2800	-2,76	0,21	5
	<i>Ospistocystadae</i>	ATSG2800	-1,57	0,47	5
	<i>Aulodrilus</i>	ATSG2800	-1,77	0,18	5
	<i>Chironomus</i>	RGDE2900	-3,33	0,77	13
		TIBR3400	-4,87	0,51	19
		SAGU2150	-5,25	0,33	24
	<i>Corbicula</i>	PRET2600	-4,41	0,07	5
MOCA2300		-3,00	0,12	6	
ln(Pb)	<i>Dero</i>	ATSG2800	0,63	0,25	5
	<i>Ospistocystadae</i>	ATSG2800	1,65	0,47	5
	<i>Aulodrilus</i>	ATSG2800	1,81	0,53	5
	<i>Chironomus</i>	RGDE2900	-0,37	0,46	13
		TIBR3400	-0,37	0,67	19
		SAGU2150	-1,27	0,89	24
	<i>Corbicula</i>	PRET2600	-4,71	1,34	5
MOCA2300		-3,69	2,53	6	

Na Tabela 4.32 estão apresentados os resultados dos testes multivariados aplicados ao Modelo Linear Geral (MLG) aplicado aos dados. Foi também efetuada a transformação logarítmica (ln) dos dados de massa dos organismos.

Tabela 4.32 – Resultados do Teste Multivariado do MLG

Efeito	Wilks' Lambda	F-Ficher	Sig.
Intercepto	0,17	88,43	< 0,001
Espécie	0,76	2,63	0,010
Local	0,03	43,29	< 0,001
ln (massa)	0,76	5,42	0,001

Design: Intercepto+Espécie+Local+ln (massa)

O resultado dos testes indica influência significativa da espécie, do local e da massa de organismos nas concentrações de metais, apresentando em todos os casos $p < 5\%$.

Para determinar onde se localizam essas diferenças, na Tabela 4.33 estão apresentados os testes comparativos por variável resposta considerada no modelo multivariado. A partir dos resultados apresentados na Tabela 4.33 pôde-se observar:

a) As constantes significativas para **Cu** e **Cd** indicam que, além dos fatores considerados, existe algum outro fator que levou a uma concentração que independe do local, espécie e massa.

b) Foi detectada influência significativa da **Espécie** para o **Cu**. Há indícios que também haja para o **Cd** (seria necessário um número maior de observações para confirmação). Não foi significativa a influência da espécie para **Pb** e **Ni**.

c) A influência do **Local** foi significativa para todos os metais pesquisados.

d) A influência da **Massa** foi significativa para os metais **Cd** e **Pb**, entretanto há forte indícios que também seja para os demais (valores de p próximos de 5%).

Tabela 4.33 – Resultado dos testes univariados para as concentrações de metais nos organismos

Fonte de variação	Variável Dependente	Soma de Quadrados	graus de liberdade	Quadrado Médio	F	p
Modelo	LN_CU (1)	177,68	8	22,21	153,58	<0,001
	LN_NI (2)	118,72	8	14,84	46,72	<0,001
	LN_CD (3)	129,74	8	16,22	94	<0,001
	LN_PB (4)	217,2	8	27,15	30,36	<0,001
Constante do modelo	LN_CU	18,36	1	18,36	126,93	<0,001
	LN_NI	0,69	1	0,69	2,17	0,145
	LN_CD	10,29	1	10,29	59,64	<0,001
	LN_PB	0,52	1	0,52	0,58	0,450
ESPÉCIE	LN_CU	1,38	2	0,69	4,76	0,011
	LN_NI	0,37	2	0,19	0,58	0,562
	LN_CD	0,75	2	0,38	2,17	0,121
	LN_PB	0,59	2	0,3	0,33	0,720
LOCAL	LN_CU	73,09	3	24,36	168,45	<0,001
	LN_NI	16,3	3	5,43	17,11	<0,001
	LN_CD	40,56	3	13,52	78,37	<0,001
	LN_PB	17,58	3	5,86	6,55	0,001
ln(massa)	LN_CU	0,38	1	0,38	2,6	0,111
	LN_NI	1,1	1	1,1	3,46	0,067
	LN_CD	2,98	1	2,98	17,27	<0,001
	LN_PB	5,22	1	5,22	5,83	0,018
Erro	LN_CU	10,56	73	0,15		
	LN_NI	23,19	73	0,32		
	LN_CD	12,59	73	0,17		
	LN_PB	65,29	73	0,89		

(1): R Squared = 0,944

(2): R Squared = 0,837

(3): R Squared = 0,912

(4): R Squared = 0,769

Nas Tabelas 4.34 e 4.35 estão apresentados os resultados dos testes de comparações múltiplas (Método de Bonferroni) para identificação detalhada dessas diferenças nas espécies e locais de amostragem. Médias marginais foram usadas para essa finalidade (quando se busca um efeito, eliminam-se os demais).

Tabela 4.34 – Resultados dos Testes de Comparação Múltiplas (Bonferroni) para as espécies

Variável dependente	(I) organismos	(J) organismos	Diferença de médias (I-J)	desvio	p	Inferior	Superior
In(Cu)	<i>Dero</i>	<i>Ospistocystadae</i>	-0,499	0,274	0,219	-1,171	0,173
		<i>Aulodrilus</i>	-0,815	0,264	0,009	-1,462	-0,167
	<i>Ospistocystadae</i>	<i>Dero</i>	0,499	0,274	0,219	-0,173	1,171
		<i>Aulodrilus</i>	-0,316	0,242	0,584	-0,908	0,276
	<i>Aulodrilus</i>	<i>Dero</i>	0,815	0,264	0,009	0,167	1,462
		<i>Ospistocystadae</i>	0,316	0,242	0,584	-0,276	0,908
In(Ni)	<i>Dero</i>	<i>Ospistocystadae</i>	-0,314	0,406	1,000	-1,310	0,682
		<i>Aulodrilus</i>	0,055	0,392	1,000	-0,904	1,015
	<i>Ospistocystadae</i>	<i>Dero</i>	0,314	0,406	1,000	-0,682	1,310
		<i>Aulodrilus</i>	0,369	0,358	0,918	-0,508	1,246
	<i>Aulodrilus</i>	<i>Dero</i>	-0,055	0,392	1,000	-1,015	0,904
		<i>Ospistocystadae</i>	-0,369	0,358	0,918	-1,246	0,508
In(Cd)	<i>Dero</i>	<i>Ospistocystadae</i>	-0,593	0,300	0,154	-1,327	0,141
		<i>Aulodrilus</i>	-0,492	0,289	0,278	-1,199	0,215
	<i>Ospistocystadae</i>	<i>Dero</i>	0,593	0,300	0,154	-0,141	1,327
		<i>Aulodrilus</i>	0,101	0,264	1,000	-0,545	0,748
	<i>Aulodrilus</i>	<i>Dero</i>	0,492	0,289	0,278	-0,215	1,199
		<i>Ospistocystadae</i>	-0,101	0,264	1,000	-0,748	0,545
In(Pb)	<i>Dero</i>	<i>Ospistocystadae</i>	-0,229	0,682	1,000	-1,900	1,442
		<i>Aulodrilus</i>	-0,521	0,657	1,000	-2,131	1,089
	<i>Ospistocystadae</i>	<i>Dero</i>	0,229	0,682	1,000	-1,442	1,900
		<i>Aulodrilus</i>	-0,292	0,601	1,000	-1,764	1,180
	<i>Aulodrilus</i>	<i>Dero</i>	0,521	0,657	1,000	-1,089	2,131
		<i>Ospistocystadae</i>	0,292	0,601	1,000	-1,180	1,764

As espécies que apresentaram comportamento diferenciado em relação às demais passíveis de comparação foram **Dero** e **Aulodrilus**. As espécies **Aulodrilus** e **Ospistocystidae** apresentaram médias que podem ser consideradas equivalentes.

Quanto à influência dos locais, somente **TIBR3400** e **SAGU2150** tiveram médias equivalentes de **Cu**. Os demais locais tiveram todos médias distintas.

Para o **Ni**, os locais **PRET2600** e **MOCA2300** foram os únicos a apresentarem médias equivalentes.

Tabela 4.35 – Resultados dos Testes de Comparação Múltiplas (Bonferroni) para os locais (pontos de amostragem)

AVALIAÇÃO DAS ESPÉCIES						Intervalo de confiança de Bonferroni 95%	
Variável dependente	(I) local	(J) local	Diferença de médias (I-J)	desvio	p	Inferior	Superior
In (Cu)	RGDE2900	TIBR3400	2,77	0,15	<0,001	2,39	3,14
		SAGU2150	2,74	0,13	<0,001	2,40	3,07
	PRET2600	MOCA2300	-1,05	0,29	0,002	-1,79	-0,31
	TIBR3400	RGDE2900	-2,77	0,15	<0,001	-3,14	-2,39
		SAGU2150	-0,03	0,12	1,000	-0,34	0,29
	MOCA2300	PRET2600	1,05	0,29	0,002	0,31	1,79
SAGU2150	RGDE2900	-2,74	0,13	<0,001	-3,07	-2,40	
	TIBR3400	0,03	0,12	1,000	-0,29	0,34	
In (Ni)	RGDE2900	TIBR3400	-0,55	0,21	0,053	-1,09	0,00
		SAGU2150	0,65	0,19	0,005	0,16	1,15
	PRET2600	MOCA2300	-0,63	0,43	0,586	-1,73	0,47
	TIBR3400	RGDE2900	0,55	0,21	0,053	0,00	1,09
		SAGU2150	1,20	0,18	<0,001	0,73	1,67
	MOCA2300	PRET2600	0,63	0,43	0,586	-0,47	1,73
SAGU2150	RGDE2900	-0,65	0,19	0,005	-1,15	-0,16	
	TIBR3400	-1,20	0,18	<0,001	-1,67	-0,73	
In (Cd)	RGDE2900	TIBR3400	1,76	0,16	<0,001	1,36	2,17
		SAGU2150	1,95	0,14	<0,001	1,59	2,32
	PRET2600	MOCA2300	-2,21	0,32	<0,001	-3,02	-1,40
	TIBR3400	RGDE2900	-1,76	0,16	<0,001	-2,17	-1,36
		SAGU2150	0,19	0,14	0,641	-0,16	0,54
	MOCA2300	PRET2600	2,21	0,32	<0,001	1,40	3,02
SAGU2150	RGDE2900	-1,95	0,14	<0,001	-2,32	-1,59	
	TIBR3400	-0,19	0,14	0,641	-0,54	0,16	
In (Pb)	RGDE2900	TIBR3400	0,28	0,36	1,000	-0,64	1,20
		SAGU2150	0,93	0,33	0,022	0,10	1,77
	PRET2600	MOCA2300	-2,09	0,72	0,020	-3,94	-0,24
	TIBR3400	RGDE2900	-0,28	0,36	1,000	-1,20	0,64
		SAGU2150	0,65	0,31	0,151	-0,14	1,44
	MOCA2300	PRET2600	2,09	0,72	0,020	0,24	3,94
SAGU2150	RGDE2900	-0,93	0,33	0,022	-1,77	-0,10	
	TIBR3400	-0,65	0,31	0,151	-1,44	0,14	

Para o **Cd**, os locais **TIBR3400** e **SAGU2150** foram os únicos a apresentarem médias equivalentes.

Para o **Pb**, os locais **TIBR3400** e **RGDE2900** foram os únicos a apresentarem médias equivalentes. Não foi possível evidenciar a diferença entre os locais **TIBR3400** e **SAGU2150**, porém há indícios de que as médias sejam diferentes, sendo necessário um maior número de observações para confirmar essa hipótese.

A bioacumulação, para cada uma das áreas de amostragem e espécie, está apresentada na Tabela 4.36.

Os testes comparativos das médias foram apresentados na Tabela 4.35.

Tabela 4.36 – Médias das concentrações de metais segundo a área e tipo de organismo – ranking da bioacumulação

Metal	Área amostrada	Organismos	Média	desvio	N
In(Cu)	ATSG2800	<i>Dero</i>	3,80	0,25	5
		<i>Ospistocystadae</i>	4,51	0,41	5
		<i>Aulodrilus</i>	4,79	0,15	5
	RGDE2900	<i>Chironomus</i>	3,63	0,54	13
	PRET2600	<i>Corbicula</i>	0,96	0,37	5
	TIBR3400	<i>Chironomus</i>	0,94	0,37	19
	MOCA2300	<i>Corbicula</i>	1,72	0,35	6
	SAGU2150	<i>Chironomus</i>	0,90	0,35	24
In(Ni)	ATSG2800	<i>Dero</i>	1,47	0,23	5
		<i>Ospistocystadae</i>	2,15	0,30	5
		<i>Aulodrilus</i>	1,72	0,32	5
	RGDE2900	<i>Chironomus</i>	-0,87	0,44	13
	PRET2600	<i>Corbicula</i>	-1,56	0,14	5
	TIBR3400	<i>Chironomus</i>	-0,19	0,64	19
	MOCA2300	<i>Corbicula</i>	-1,41	0,27	6
	SAGU2150	<i>Chironomus</i>	-1,50	0,76	24
		<i>Ospistocystadae</i>	2,15	0,30	5
		<i>Aulodrilus</i>	1,72	0,32	5
		<i>Chironomus</i>	-0,91	0,87	56
In(Cd)	ATSG2800	<i>Dero</i>	-2,76	0,21	5
		<i>Ospistocystadae</i>	-1,57	0,47	5
		<i>Aulodrilus</i>	-1,77	0,18	5
	RGDE2900	<i>Chironomus</i>	-3,33	0,77	13
	PRET2600	<i>Corbicula</i>	-4,41	0,07	5
	TIBR3400	<i>Chironomus</i>	-4,87	0,51	19
	MOCA2300	<i>Corbicula</i>	-3,00	0,12	6
	SAGU2150	<i>Chironomus</i>	-5,25	0,33	24
In(Pb)	ATSG2800	<i>Dero</i>	0,63	0,25	5
		<i>Ospistocystadae</i>	1,65	0,47	5
		<i>Aulodrilus</i>	1,81	0,53	5
	RGDE2900	<i>Chironomus</i>	-0,37	0,46	13
	PRET2600	<i>Corbicula</i>	-4,71	1,34	5
	TIBR3400	<i>Chironomus</i>	-0,37	0,67	19
	MOCA2300	<i>Corbicula</i>	-3,69	2,53	6
	SAGU2150	<i>Chironomus</i>	-1,27	0,89	24

Visando obter um ranking das áreas de amostragem, foi aplicada a técnica de Análise Hierárquica de Conglomerados (Clusters), usando o método de Ward para definição dos clusters. O resumo das estatísticas por cluster está apresentado na Tabela 4.37.

Tabela 4.37 – Estatísticas descritivas para os Clusters obtidos

Metais	Cluster	N	Médias	Desvios	IC 95%	
					Inferior	Superior
In(Cu)	1	15	4,37	0,51	4,08	4,65
	2	56	1,54	1,22	1,22	1,87
	3	11	1,38	0,52	1,02	1,73
In(Ni)	1	15	1,78	0,39	1,57	2
	2	56	-0,91	0,87	-1,14	-0,68
	3	11	-1,48	0,22	-1,63	-1,33
In(Cd)	1	15	-2,04	0,61	-2,37	-1,7
	2	56	-4,68	0,92	-4,93	-4,43
	3	11	-3,64	0,74	-4,14	-3,14
In(Pb)	1	15	1,36	0,67	0,99	1,73
	2	56	-0,76	0,85	-0,99	-0,53
	3	11	-4,15	2,05	-5,53	-2,77

Esses clusters foram definidos a partir da análise simultânea de todas as medidas de metais nos organismos e ranking que foi obtido (cluster 1 foi de maior bioacumulação e o cluster 3, o de menor). A Figura 4.3 ilustra essa propriedade conseguida através da técnica de Análise Hierárquica de Conglomerados.

A consistência da alocação das medições nos clusters, preservando as áreas de amostragem (uma mesma área foi alocada num mesmo cluster), podemos interpretar em termos de bioacumulação. Ou seja, o local alocado no primeiro foi o de maior bioacumulação, os alocados no segundo, apresentam bioacumulação intermediária e os alocados no terceiro os de menor bioacumulação.

Na Tabela 4.38 está apresentada a distribuição dos casos segundo o local e cluster.

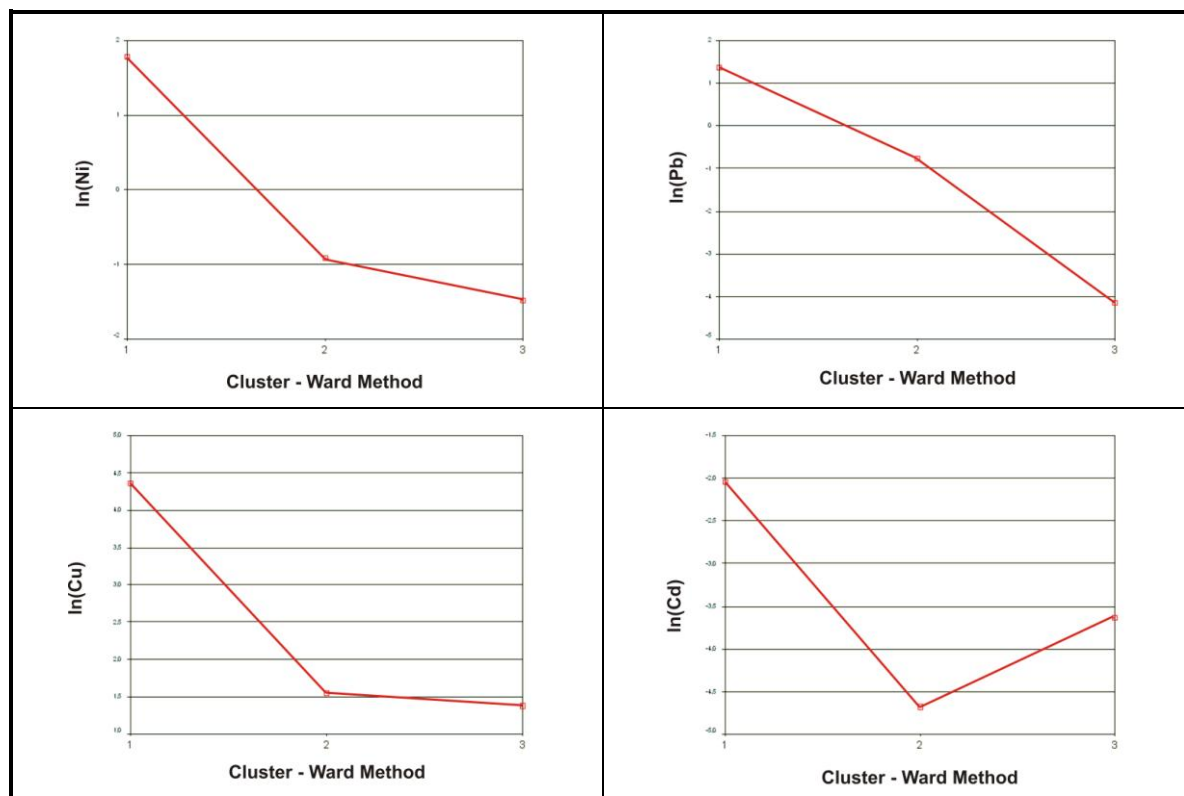


Figura 4.3 – Comportamento das médias dos metais nos cluster refletindo a bioacumulação

Tabela 4.38 – Distribuição dos casos segundo o local e cluster que foi alocado

Locais	Observações	Cluster – Ward Method			Total
		1	2	3	
ATSG2800	n	15			15
	%	100,00%			100,00%
RGDE2900	n		13		13
	%		100,00%		100,00%
PRET2600	n			5	5
	%			100,00%	100,00%
TIBR3400	n		19		19
	%		100,00%		100,00%
MOCA2300	n			6	6
	%			100,00%	100,00%
SAGU2150	n		24		24
	%		100,00%		100,00%
Total	n	15	56	11	82
	%	18,30%	68,30%	13,40%	100,00%

Como mencionado anteriormente, a alocação foi perfeita dos locais nos cluster, ou seja, 100% dos casos ficaram no mesmo cluster, refletindo o grau de bioacumulação.

O local onde a bioacumulação foi mais acentuada foi o **ATSG2800**, ficando no grau intermediário os locais **RGDE2900**, **TIBR3400** e **SAGU2150**. O menor grau de bioacumulação ficou com os locais **PRET2600** e **MOCA2300**.

A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 4.32 e 4.33, ficou evidenciada a influência da massa dos organismos nas concentrações de metais presentes nos mesmos. Nas próximas etapas será demonstrado o sentido dessas associações.

Na Figura 4.4 estão apresentados os gráficos tipo BoxPlot separando as espécies e os locais. Na Figura 4.5 estão apresentados os gráficos tipo BoxPlot para a massa dos organismos. A comparação entre elas permite a compreensão dos resultados das correlações entre metais e massa dos organismos. Também foi aplicada a transformação logarítmica (\ln) para a massa dos organismos.

Na Tabela 4.33 estão apresentadas as correlações de Pearson para as concentrações de metais e a massa dos organismos. Esta correlação se dá no sentido inverso, confirmando o que sugere a comparação das Figuras 4.4 e 4.5.

Portanto, as correlações entre a **concentração dos metais** e a **massa** dos organismos foram **significativas** e **negativas** para todos os metais analisados, ou seja, quanto **menor a massa, maiores concentrações de metais** são esperadas. O **Pb** apresentou maior correlação, seguido do **Ni**, **Cu** e **Cd**.

Todas as correlações entre os metais nos organismos foram significativas, e diretas, apontando para um quadro de bioacumulação para todos os metais. Pb e Cd foi o de menor magnitude e a maior entre Cd e Cu.

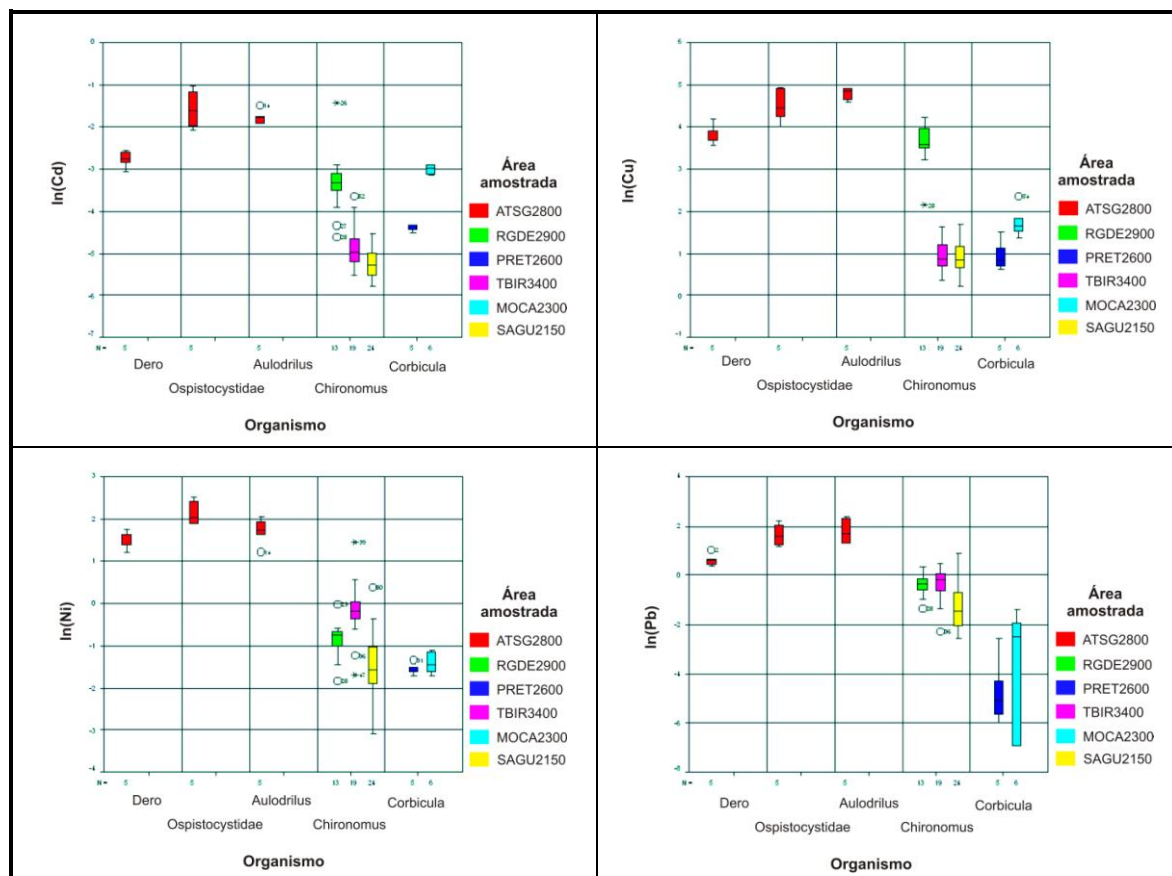


Figura 4.4 – Diagramas BoxPlot para as concentrações de metais nos organismos por local

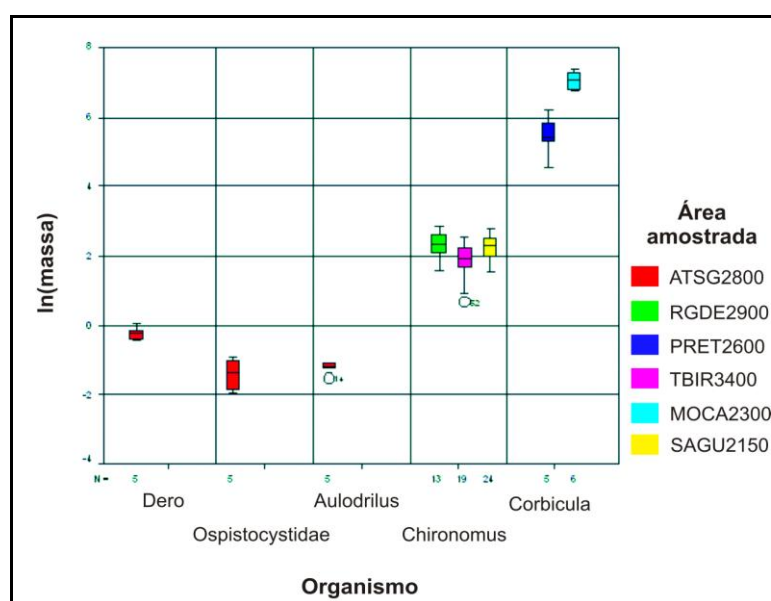


Figura 4.5 – Diagramas BoxPlot para a massa dos organismos segundo o local

Tabela 4.39 – Correlação de Pearson entre a massa dos organismos e os metais e entre organismos

Variáveis	Estatísticas	ln(Cu)	ln(Ni)	ln(Cd)	ln(Pb)	ln(massa)
ln(Cu)	Pearson Correlation	1	0,69	0,88	0,55	-0,52
	Sig. (2-tailed)	.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	N	82	82	82	82	82
ln(Ni)	Pearson Correlation	0,69	1	0,65	0,73	-0,71
	Sig. (2-tailed)	<0,001	.	<0,001	<0,001	<0,001
	N	82	82	82	82	82
ln(Cd)	Pearson Correlation	0,88	0,65	1	0,37	-0,34
	Sig. (2-tailed)	<0,001	<0,001	.	0,001	0,002
	N	82	82	82	82	82
ln(Pb)	Pearson Correlation	0,55	0,73	0,37	1	-0,83
	Sig. (2-tailed)	<0,001	<0,001	0,001	.	<0,001
	N	82	82	82	82	82
ln(massa)	Pearson Correlation	-0,52	-0,71	-0,34	-0,83	1
	Sig. (2-tailed)	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	.
	N	82	82	82	82	82

4.7.1 Avaliação da correlação entre a concentração dos elementos nos organismos e nos sedimentos

Na Figura 4.6 estão apresentadas as distribuições das concentrações de metais nos organismos (gráficos à esquerda) e no sedimento (gráficos à direita).

Visando avaliar a estrutura de dependência entre os metais no sedimento e aqueles encontrados nos organismos, empregamos a média observada em cada ponto (dados transformados), para aplicarmos a técnica Multivariada de Correlação Canônica entre os conjuntos de variáveis formados pelos metais medidos nos organismos e aqueles medidos no sedimento. Esses dois conjuntos foram então correlacionados.

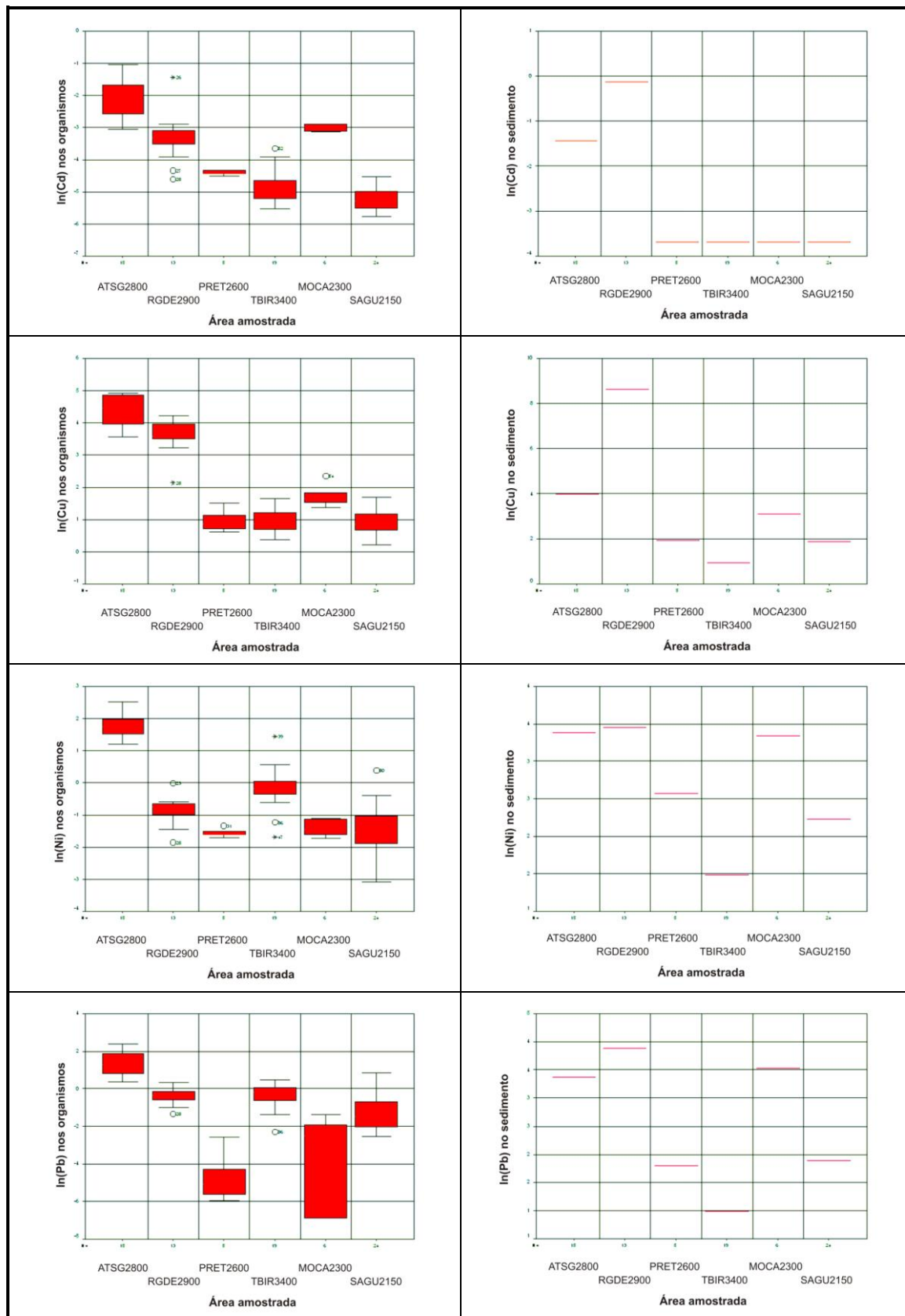


Figura 4.6 – Concentrações de metais nos organismos (esquerda) e nos sedimentos (direita) por local

Como resultado da aplicação da técnica pôde-se observar que a correlação canônica foi significativa ($p < 0,05$), positiva e igual a 0,999. Na Figura 4.7 está apresentado o gráfico das variáveis canônicas (combinação linear das concentrações de metais) nos dois conjuntos (organismos e sedimento).

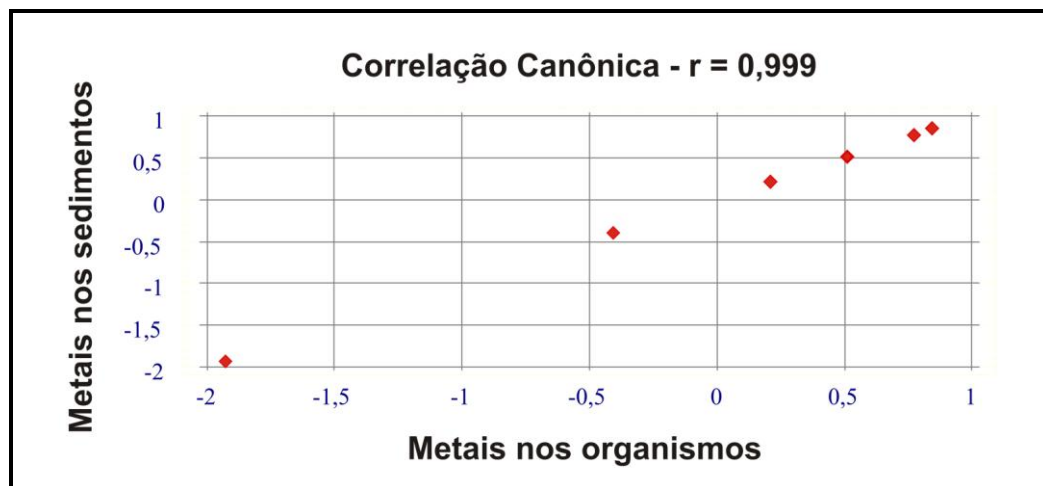


Figura 4.7 – Resultado da Correlação Canônica entre os metais nos organismos e no sedimento

Como foi possível observar no gráfico da Figura 4.7, a correlação foi quase perfeita, indicando a estrutura de dependência entre os dois conjuntos de variáveis.

Como o número de pontos foi pequeno, apenas 6, para confirmação desse resultado é recomendável que seja ampliado o número de áreas amostradas.

4.8 Tratamento estatístico dos dados obtidos para NAA – análise estatística multivariada

Os resultados obtidos pela técnica de INAA e granulometria foram reunidos e submetidos a tratamento estatístico e os resultados estão apresentados a seguir.

4.8.1 Análise Fatorial

Foi efetuada a Análise Fatorial com extração de Componentes Principais e Rotação Varimax normalizada, utilizando-se os resultados das amostras de sedimento obtidos pela técnica de INAA e também os dados de granulometria. Foi utilizado o programa Statistica 7.0 (STATSOFT). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.40 e estão marcados os valores $> |0,6|$. A extração de Componentes Principais é apresentada na Tabela 4.41.

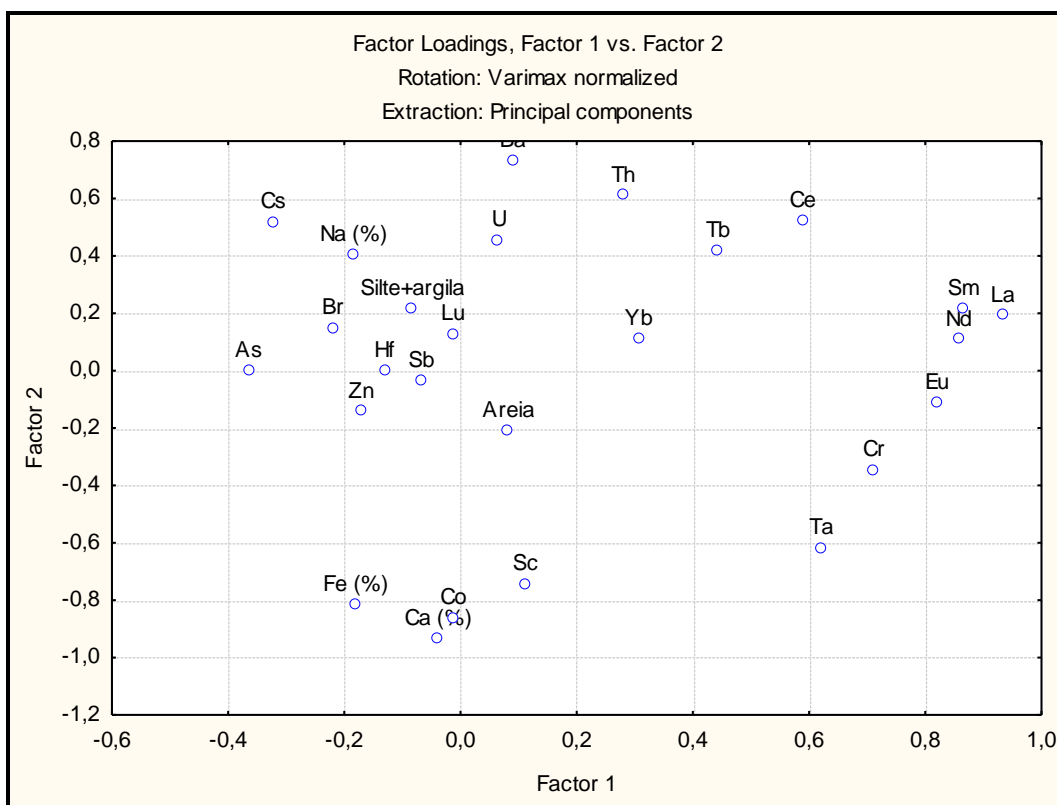


Figura 4.8 – Análise de Fatores, Fator 1 x Fator 2

Tabela 4.40 – Resultado da Análise Fatorial utilizando Rotação Varimax com valores /0,6/ selecionados

Elementos	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
As	-0,364035	-0,002623	-0,290015	-0,751146
Ba	0,090169	0,729953	0,206322	0,113004
Br	-0,218986	0,148221	-0,118284	-0,940413
Ca (%)	-0,037423	-0,934682	0,199455	0,166304
Ce	0,588898	0,522848	0,037364	0,221173
Co	-0,011812	-0,861665	0,040210	0,137329
Cr	0,711576	-0,348267	0,059742	-0,192422
Cs	-0,321399	0,516488	-0,216571	-0,496623
Eu	0,820347	-0,112240	-0,208017	0,327630
Fe (%)	-0,179564	-0,816497	-0,128241	-0,155963
Hf	-0,129406	-0,003265	0,872567	0,289500
La	0,933364	0,190830	0,010350	0,210397
Lu	-0,012817	0,125617	0,908726	0,102072
Na (%)	-0,183231	0,400781	0,592397	0,008154
Nd	0,857897	0,107657	-0,048083	0,349852
Sb	-0,066812	-0,035610	-0,156559	-0,897037
Sc	0,112390	-0,745442	-0,218204	-0,063959
Sm	0,864482	0,212813	0,205853	0,369965
Ta	0,621226	-0,618957	0,346304	-0,019600
Tb	0,443179	0,416866	0,322359	-0,074559
Th	0,280737	0,609102	0,571291	-0,188038
U	0,065815	0,454503	0,762365	-0,291389
Yb	0,306869	0,108035	0,878534	0,212971
Zn	-0,170321	-0,143359	-0,145020	-0,827245
Areia	0,082481	-0,212654	0,818268	0,355331
Silte+argila	-0,082392	0,212626	-0,818587	-0,354702
Expl.Var	5,076105	5,595370	5,612577	4,286700
Prp.Totl	0,195235	0,215207	0,215868	0,164873

Verificou-se a partir dos dados da Tabela 4.41 que 4 fatores puderam ser extraídos, respondendo por 79,2% da variância observada. O **Fator 1** explica 31,2% da variância total; o **Fator 2** é responsável por 22,2%; o **Fator 3** por 16,3% e o **Fator 4**, por 9,4% da variância observada. Na Figura 4.8 é apresentado o gráfico de Fator1 x Fator 2.

O **Fator 1** compreende os elementos Cr, Eu, La, Nd, Sm e Ta. O **Fator 2**, compreende os elementos Ba e Th que apresentam correlação negativa com os elementos Ca, Co, Fe, Sc e Ta. O **Fator 3** apresenta uma correlação positiva para Hf, Lu, U, Yb e areia e uma correlação negativa com o teor de silte+argila. O **Fator 4** apresenta uma correlação negativa para os elementos As, Br, Sb e Zn.

Tabela 4.41 – Resultado da Análise Fatorial com extração de Componentes Principais

	AutoValor	Variância Total (%)	AutoValor Cumulativo	Cumulativo %
1	8,11	31,18	8,11	31,18
2	5,78	22,24	13,89	53,42
3	4,23	16,29	18,12	69,69
4	2,45	9,42	20,57	79,19

4.8.1 Análise de Agrupamentos

Utilizando-se a mesma base de dados da Análise de Fatores foi realizada a Análise de Agrupamento (Cluster Analysis), utilizando-se o método de Ward e as distâncias Euclidianas. O objetivo dessa análise foi verificar possíveis semelhanças entre os pontos de amostragem (Figura 4.9) e entre os elementos analisados e os demais parâmetros (Figura 4.10)

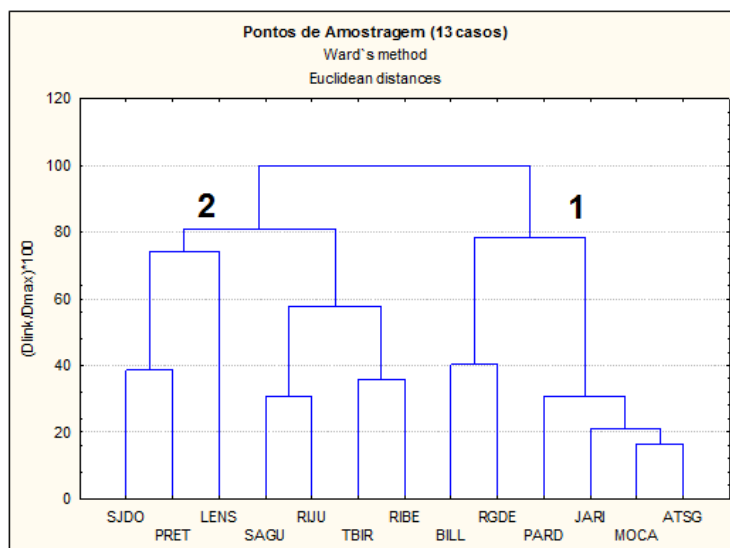


Figura 4.9 –0 Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento, variáveis: pontos de amostragem

A Figura 4.9 apresentou a formação de 2 grupos. O grupo 1 foi formado pelos pontos BILL, RGDE, PARD, JARI, MOCA e ATSG. Os pontos BILL e RGDE apresentaram as maiores concentrações para os elementos As, Br e Zn e também altos teores de Cs, Fe e silte+argila. Um outro fator a ser considerado no grupo 1, formado pelos reservatórios e pelo rio Pardo, foi provavelmente os altos teores de fração silte e argila apresentados nesse grupo.

O grupo 2 foi constituído por 2 sub-grupos:

- sub-grupo 1: pontos SJDO, PRET e LENS que apresentaram, em geral, teores similares de areia e silte+argila; SJDO e PRET, altas concentrações dos elementos Cr, Eu, La, Nd, Sc, Sm, Ta, Th e U. O ponto LENS, apresentou altos teores de Ca, Co, Cr, Fe, Hf, Sc, Ta e Zn.

- sub-grupo 2: pontos SAGU, RIJU, TBIR e RIBE, que apresentaram os maiores teores da fração areia. Esses pontos apresentaram, em geral, altos teores de Ba, Hf e Na (SAGU, RIJU e RIBE) e alguns elementos terras raras (Ce, La, Lu). O ponto TBIR apresentou altos teores de Ce, Lu e Yb.

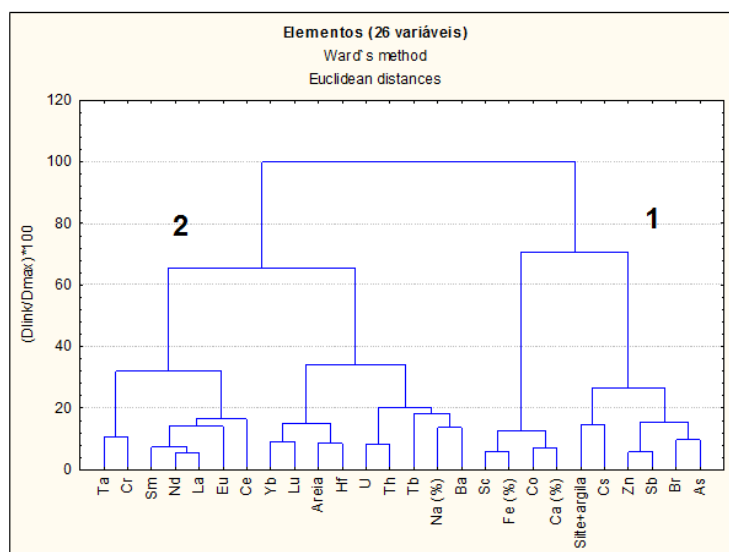


Figura 4.10 – Dendrograma resultante da Análise de Agrupamento, variáveis: elementos e granulometria

Quando a mesma base de dados foi rodada considerando-se os parâmetros analisados como variáveis, também houve a formação de 2 grupos. A partir da Figura 4.10 verificou-se a formação de 2 grupos.

O grupo 1 foi formado por 2 sub-grupos: um deles formado pelos elementos Fe, Sc, Co e Ca e o segundo, pela fração silte+argila, Cs, Zn, Sb, Br e As.

O grupo 2 também foi formado por 2 sub-grupos:

- sub-grupo 1: formado pelos elementos Ta, Cr, Sm, Nd, La, Eu, Ce;
- sub-grupo 2: constituído por Yb, Lu, Areia, Hf, U, Th, Tb, Na, e Ba

Esse resultado indica que a distribuição dos elementos é controlada, principalmente, pelas frações granulométricas.

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

As técnicas analíticas utilizadas no presente estudo (INAA, ICP OES e GF AAS) apresentaram sensibilidade, precisão e exatidão adequadas para a determinação de elementos metálicos em amostras de água e sedimento e elementos traço em sedimentos dos reservatórios.

Os métodos propostos para determinação de elementos metálicos em organismos bentônicos apresentaram-se eficientes e foram validados pela utilização de materiais de referência certificados, obtendo-se boas recuperações analíticas e baixos valores de desvio padrão e erro relativo, com exceção dos elementos As e Cr.

Uma vez que não foram obtidas boas recuperações para os elementos As e Cr nos materiais de referência, torna-se necessário dar continuidade aos testes para desenvolvimento e validação das metodologias para determinação destes elementos em amostras de organismos bentônicos.

Os métodos utilizados para a determinação de elementos metálicos em amostras de águas e sedimentos (ICP OES e GF AAS) apresentaram-se eficientes e foram validados pela utilização de materiais de referência certificados, obtendo-se boas recuperações analíticas e baixos valores de desvio padrão e erro relativo.

Os elementos As, Cd, Cu, Cr, Pb e Ni nas amostras de água dos pontos de coleta estudados apresentaram-se inferiores aos limites estipulados para corpos de água doce classe 2 pela Resolução 357/2005 do CONAMA, que classifica os corpos de água superficiais quanto aos seus usos preponderantes, indicando que esses elementos não estão presentes em níveis que possam causar danos aos corpos d'água. Apesar de não terem sido detectados na água, os elementos estudados

foram determinados, muitas vezes em concentrações que podem causar efeitos adversos à biota aquática, nas amostras de sedimento de dez dos treze pontos estudados, o que sugere que esses elementos tendem a se depositar nos sedimentos.

Quando comparados aos valores de TEL e PEL do CCME, estabelecidos pela legislação Canadense e adotados pela CETESB em seu programa de monitoramento da qualidade dos sedimentos, o ponto LENS3900 apresentou concentração de Cu entre os valores de TEL e PEL e de As acima do valor de PEL. O ponto PARD2590 apresentou concentrações de As, Cr, Cu e Ni entre os valores de TEL e PEL. PRET2600 apresentou concentração de Cr acima de PEL. RIBE2650 apresentou concentração de As entre TEL e PEL e de Pb acima do valor de PEL. O ponto SJDO2150 apresentou concentração de Ni entre os valores de TEL e PEL e de Cr e Pb, acima do valor de PEL. O ponto ATSG2800 apresentou concentrações de Cr, Cu e Ni entre os valores de TEL e PEL. O ponto BILL2100 apresentou concentração de Pb entre TEL e PEL e de As, Cd, Cr, Cu e Ni acima de PEL. JARI0800 apresentou concentrações de As, Cu e Pb entre os valores de TEL e PEL. MOCA2300 apresentou concentrações de Cr e Ni entre TEL e PEL e RGDE2900 apresentou concentrações de Cd, Cr, Ni e Pb entre TEL e PEL e As e Cu, acima de PEL. Apenas os pontos RIJU2800, SAGU2150 e TBIR3400 apresentaram concentrações dos elementos estudados abaixo dos valores de TEL.

Foram determinados os elementos Cd, Cu, Pb e Ni em muitas das amostras de invertebrados bentônicos estudados, o que demonstra que estes elementos podem ser absorvidos e bioacumulados nos organismos que vivem expostos aos sedimentos contaminados com estes elementos.

O teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* mostrou-se uma importante ferramenta para estudo da toxicidade de amostras tanto de água como de sedimento, principalmente para verificar a biodisponibilidade de contaminantes presentes nos sedimentos.

Para as amostras de água intersticial dos sedimentos coletados, não foi detectada toxicidade aguda nas amostras ATSG2800, PRET2600, MOCA2300,

SAGU2150 e RIBE2650. Os demais pontos apresentaram toxicidade aguda para o *Vibrio fischeri*. Quando classificados segundo o sistema adotado pela CETESB (2012) em seus programas de monitoramento, as amostras dos pontos JARI0800 e RIJU2800 foram classificadas como moderadamente tóxicas. As amostras dos pontos BILL2100, PARD2590 e LENS3900 foram classificadas como tóxicas e as amostras dos pontos RGDE2900, TBIR3400 e SJDO2150 foram classificadas como muito tóxicas.

Quando comparados com os resultados de metais nos sedimentos, os resultados de toxicidade obtidos nos pontos ATSG2800, PRET2600, MOCA2300 e RIBE2650 indicaram que, apesar de alguns elementos estarem presentes nos sedimentos, existe a probabilidade de não estarem disponíveis na água intersticial para causarem toxicidade para a bactéria. Os resultados obtidos nos pontos JARI0800, BILL2100, PARD2590, LENS3900, RGDE2900 e SJDO2150 indicaram que a toxicidade observada pode estar relacionada com os metais presentes no sedimento. Os pontos RIJU2800 e TBIR3400 apresentaram concentrações abaixo dos valores de TEL para todos os elementos estudados, o que sugere que a toxicidade observada provavelmente está relacionada com outras substâncias presentes no sedimento.

A avaliação da comunidade bentônica e a aplicação do Índice da Comunidade Bentônica (ICB) para classificar a qualidade dos sedimentos são métodos já consagrados para auxiliar no diagnóstico de qualidade ambiental de sedimentos com vistas à proteção da vida aquática. Dos treze pontos analisados, apenas o ponto RGDE2900 teve classificação **Ruim**, na amostra coletada na região profunda do reservatório. Oito pontos foram classificados como **Regular**: BILL2100, nas regiões profunda e sublitoral; PARD2590; PRET2600; TBIR3400; SAGU2150; RIJU2800 e SJDO2150. O ponto MOCA2300 foi classificado com qualidade **Boa** na região profunda e **Regular** na sublitoral. O ponto JARI0800 foi classificado com qualidade **Regular** na região profunda e **Boa** na sublitoral. Apenas dois pontos foram classificados com qualidade **Boa**, os pontos LENS3900 e RIBE2650, localizados no rio Lençóis e rio Ribeira, respectivamente.

A análise estatística multivariada aplicada neste trabalho, correlacionando as concentrações dos elementos nos sedimentos (local), nos organismos bentônicos (espécies) e as massas dos organismos apresentou as seguintes conclusões:

- Espécie, local e massa de organismos constituíram fatores significativos para explicar as concentrações de metais, ou seja, foram significativas as diferenças entre as médias de concentração de metais observadas nos organismos para essas variáveis.
- Para Cu e Cd, além dos fatores considerados, existe algum outro que levou a uma concentração que independe do local, espécie e massa.
- Foi detectada influência significativa da espécie para Cu. Há indícios de que também haja para Cd. Não foi significativa a influência da espécie para Pb e Ni.
- A influência do Local foi significativa para todos os metais pesquisados.
- A influência da massa foi significativa para os metais Cd e Pb, entretanto, há fortes indícios de que seja também para o Cu e Ni.
- As espécies que apresentaram comportamento diferenciado em relação às demais, passíveis de comparação foram: *Dero* e *Aulodrilus*. As espécies *Aulodrilus* e *Ospistocystadae* apresentaram médias que podem ser consideradas equivalentes.
- Quanto à influência dos locais, somente TIBR3400 e SAGU2150 tiveram médias equivalentes de cobre nos organismos. Os demais locais tiveram todas as médias distintas.
- Para o Ni nos organismos, os locais PRET2600 e MOCA2300 foram os únicos a apresentarem médias equivalentes.
- Para o Cd nos organismos, os locais TIBR3400 e SAGU2150 foram os únicos a apresentarem médias equivalentes.
- Para o Pb nos organismos, os locais TIBR3400 e RGDE2900 foram os únicos a apresentarem médias equivalentes. Não foi possível evidenciar a diferença

entre os locais TIBR3400 e SAGU2150, mas há indícios de que as médias sejam diferentes; um maior número de observações poderia confirmar essa hipótese;

- O local onde a bioacumulação foi mais acentuada foi o ATSG2800, no grau intermediário ficaram os locais RGDE2900, TIBR3400 e SAGU2150. O menor grau de bioacumulação ficou com os locais PRET2600 e MOCA2300;
- As correlações entre os metais e a massa dos organismos foram significativas e negativas para todos os metais analisados, ou seja, quanto menor a massa, maiores concentrações de metais são esperadas. O Pb foi o metal com maior correlação, seguido do Ni, Cu e por último, o Cd;
- Foi significativa e positiva a correlação canônica entre as concentrações de metais no sedimento e nos organismos;

A Análise por Ativação Neutrônica, utilizada para a caracterização multielementar das amostras de sedimento estudadas, demonstrou existir valores mais enriquecidos para os elementos As, Br, Cr, Hf, Ta, Th, U e Zn e os elementos terras raras (ETR) Ce, Eu, La, Nd, Sm, Tb e Yb em muitas das amostras analisadas indicando que pode estar havendo contribuição antrópica para esses elementos.

5.1 Recomendações

- Ampliar o estudo com maior número de pontos de observação;
- Avaliar o sedimento com base em mais de uma amostra da área amostrada;
- Se viável, garantir todas as espécies em todos os locais amostrados.
- Prosseguir o desenvolvimento das metodologias para determinação dos elementos As e Cr em organismos bentônicos por GF AAS.

Além dos dados obtidos no presente estudo, uma importante contribuição do trabalho foi o estabelecimento de nova metodologia para determinação de elementos metálicos (Cd, Pb, Cu e Ni) em amostras de organismos bentônicos para auxiliar no diagnóstico de qualidade dos rios e reservatórios que poderá ser adotada nas análises realizadas dentro da Rede de Monitoramento de Águas Interiores da CETESB

CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. **ABNT NBR 25469:2007 Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras**. São Paulo: ABNT, 2007. 7p. Norma técnica.
- AL-JUNDI, J.; RANDLE, K. Instrumental neutron activation analysis (INAA) of estuarine sediments. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.249, n.2, p. 361-367, 2001.
- AMADO-FILHO, G. M.; SALGADO, L. T.; REBELO, M. F.; REZENDE, C. E.; KAREZ, C. S.; PFEIFFER, W. C. Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.68, n.1, p. 95-100, 2008.
- AMORIM, E. P., FAVARO, D. I. T., BERBEL, G. B. B., BRAGA, E. S. Metal and trace element assessment of estuary sediments from Santos, Brazil, by neutron activation and atomic absorption techniques. **Proceeding of International Nuclear Atlantic Conference**. Santos, September 30 to October 5, v.1, p. 1-9, 2007.
- AMORIM, E. P., FAVARO, D. I. T., BERBEL, G. B. B., BRAGA, E. S. Assessment of metal and trace element concentrations in the Cananéia estuary, Brazil, by neutron activation and atomic absorption techniques. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.278, n.2, p. 485-489, 2008.
- AMORIM, E. P.; FAVARO, D. I. T.; BERBEL, G. B. B.; BRAGA, E. S. Santos estuarine sediments, Brazil - metal and trace element assessment by neutron activation analysis. **Proceeding of International Nuclear Atlantic Conference**. Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 27 to October 2, v.1, p. 1-11, 2009.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 117-152.
- ARAÚJO, R. P. A.; SHIMIZU, G. Y.; BOHRER, M. B. C.; JARDIM, W. Avaliação da qualidade dos sedimentos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 293-326.
- AUDRY, S.; SCHAEFER, J.; BLANC, G.; JOUSNEAU, J-M. Fifty-year sedimentary record of heavy-metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in Lot River reservoirs (France). **Environmental Pollution**, v.132, p. 413-426, 2004.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (Ed.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2003. São Paulo: Intertox, 2003. 340p.
- AZUR ENVIRONMENTAL. **Microtox Omni™ Software**. 1999. 1 CD-ROM.

- BERVOETS, L.; INT PANIS, L.; VERHEYEN, R. Trace metal levels in water, sediments and *Chironomus gr. thummi*, from different water courses in Flanders (Belgium). **Chemosphere**, [S.l.], v.29, n.8, p. 1591-1601, 1994.
- BETTINARDI, I. W. **Desenvolvimento do kit Monitox (biomassa liofilizada de *Vibrio fischeri*) para o automonitoramento de toxicidade de efluentes industriais**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- BEVILACQUA, J. E. **Estudos sobre a Caracterização e a Estabilidade de Amostras de Sedimento do Rio Tietê, S. P.** 1996. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BODE, P. **Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory**. Delft, Netherlands: Interfaculty Reactor Institut, 1996. 147p.
- BOSTELMANN, E. **Avaliação da concentração de metais em amostras de sedimento do reservatório Billings, braço Rio Grande, São Paulo, Brasil**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo. São Paulo.
- BORGMANN, U. Assessing metal impacts in sediments: key questions and how to answer them. **Sediment Quality Assessment and Management: Insight and progress**. Burlington, v.6, n.2, p. 23-38, 2003.
- BORGMANN, U.; NÉRON, R.; NORWOOD, W. P. Quantification of bioavailable nickel in sediments and toxic thresholds to *Hyalella azteca*. **Environmental Pollution**, v.111, p. 189-198, 2001.
- BRYAN, G. W.; LANGSTON, W. J. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments to United Kingdom estuaries: a review. **Environmental Pollution**, v.76, p. 89-131, 1992.
- CAMARGO, C. B. **Gerenciamento pelo lado da demanda: metodologia para identificação do potencial de conservação de energia elétrica de consumidores residenciais**. 2006. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. Disponível em <<http://www.eps.ufsc.br/teses96/camargo/index/>>, acessado em agosto de 2012.
- CCME. **Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic life**. 1999. Update em 2001, disponível em <<http://www.ec.gc.ca/ceqg-rcqe/English/ceqg/sediment/default.cfm>>, acessado em maio de 2009.
- CETESB. **L6.160 - Sedimentos: determinação da distribuição granulométrica - método de ensaio**. São Paulo: CETESB, 1995. 15p. Norma técnica.
- CETESB. **A fauna bentônica no complexo Billings (SP)**. São Paulo: CETESB, 1997. 60p.+Tabs+Figs. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: 19 ago. 2009.

- CETESB. **L5.309 - Determinação de bentos de água doce - macroinvertebrados: métodos qualitativo e quantitativos**. São Paulo: CETESB, 2003. 16p. Norma técnica.
- CETESB. **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2006. 146p. (Série Relatórios).
- CETESB. **Aplicação da tríade na avaliação da qualidade de sedimentos em redes de monitoramento**. São Paulo: CETESB, 2007. 107p. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: 19 jun. 2012.
- CETESB. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2008**. São Paulo: CETESB, 2009. 528p. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: 19 ago. 2009.
- CETESB. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011. 326p.
- CETESB. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2011**. São Paulo: CETESB, 2012. 356p. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicações/relatorios>>, acessado em 10 abr. 2012.
- CHAPMAN, P. M.; ANDERSON, J. A Decision-Making Framework for Sediment Contamination. **Integrated Environmental Assessment and Management**. v.1, n.3, p. 163-173, 2005.
- CLEMENTS, W. H.; CARLISLE, D. M.; LAZORCHAK, J. M.; JOHNSON, P. C. Heavy Metals Structure Benthic Communities in Colorado Mountain Streams. **Ecological Applications**, v.10, n.2, p. 626-638, 2000.
- COLEMAN, R. N.; QURESHI, A. A. Microtox and *Spirillum volutans* tests for assessing toxicity of environmental samples. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.35, p. 443-451, 1985.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n.º 454, de 1º de novembro de 2012**. Publicada no DOU n.216, de 8 de novembro de 2012, Seção 1, p. 66-69.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n.º 357, de 17 de março de 2005**. Publicada no DOU n.53, de 18 de março de 2005, Seção 1, p. 58-63.
- CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrofotometria de absorção atômica: aspectos gerais e aplicativos**. São Paulo, fev. 2005. 17f. Apostila integrante do curso Espectrofotometria de Absorção Atômica. Material particular.

- CRISTACHE, C.; GMÉLING, K.; CULICOV, O.; FRONTASYEVA, M. V.; TOMA, M.; DULIU, O. G. An ENAA and PGAA comparative study of anoxic Black Sea sediments. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.279, n.1, p. 7-12, 2009.
- DOHERTY, F. G. A Review of the Microtox[®] Toxicity Test System for Assessing the Toxicity of Sediments and Soils. **Water Quality Research Journal of Canada**, v.36, n.3, p. 475-518, 2001.
- DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaios de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**. 2002. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde-14072005-153541/>>. Acessado em: 25 ago. 2009.
- ENVIRONMENT CANADA. Environmental Protection Series. **Biological Test Method**: Toxicity test using luminescent bacteria. Canadá, 1992. 56p. Método Analítico.
- ESPÍNDOLA, L. G.; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. (Ed.). **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP): caracterização, impactos e propostas de manejo**. São Carlos: RiMa, 2004. 484p.
- FARAG, A. M.; WOODWARD, D. F.; GOLDSTEIN, J. N.; BRUMBAUGH, W.; MEYER, J. S. Concentration of Metals Associated with Mining Waste in Sediments, Biofilm, Benthic Macroinvertebrates, and Fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.34, p. 119-127, 1998.
- FÁVARO, D. I. T.; MOREIRA S. R. D.; CAMPOS, V. A.; MAZZILLI, B. P.; CAMPAGNOLLI, F. Determinação Multielementar Por Ativação Neutrônica de Sedimentos do Reservatório Billings, Braço Rio Grande, São Paulo. In: V ENCONTRO NACIONAL DE APLICAÇÕES NUCLEARES, ENAN, 15 a 20 de Outubro, 2000, Rio de Janeiro, RJ, **Anais**, CD-ROM, 2001.
- FAVARO, D. I. T.; MOREIRA, S. R. D.; MOREIRA, E. G.; MAZZILLI, B. P.; CAMPAGNOLLI, F. Chemical Characterization and Recent Sedimentation Rates in Sediment Cores from Rio Grande Reservoir, São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.273, p. 451-463, 2007.
- FIGUEIREDO, A. M. G.; ENZWEILER, J.; CAMARGO, S. P.; SÍGOLO, J. B.; GUMIERO, F. C.; PAVESE, A. C.; MILIAN, F. M. Metal contamination in urban park soils of São Paulo. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.280, n.2, p. 423-429. 2009.

- FRANKLIN, R. L. **Determinação de mercúrio total e orgânico e avaliação dos processos de metilação e desmetilação em sedimentos do Reservatório Rio Grande, Estado de São Paulo.** 2010. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FRANKLIN, R. L.; FERREIRA, F. J.; BEVILACQUA, J. E.; FAVARO, D. I. T. Assessment of Metals and Trace Elements in Sediments from Rio Grande Reservoir, Brazil, by Neutron Activation Analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.291, p. 147-153, 2012.
- FUNG, C. N.; LAM, J. C. W.; ZHENG, G. J.; CONNELL, D. W.; MONIRITH, I.; TANABE, S.; RICHARDSON, B. J.; LAM, P. K. S. Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis*. **Environmental Pollution**, v.127, p. 203-216, 2004.
- GARCIA, V. S. G. **Avaliação da toxicidade em água e sedimento do Rio Cubatão.** 2012. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GLASCOCK, M. D. An Overview of Neutron Activation Analysis, 2003. Disponível em: <http://www.missouri.edu/~glascock/naa_over.htm>, acessado em fevereiro de 2010.
- GOMES, F. C.; GODOY, J. M.; GODOY, M. L. D. P.; CARVALHO, Z. L.; LOPES, R. T.; SANCHEZ-CABEZA, J. A.; LACERDA, L. D.; WASSERMAN, J. C. Metal concentration, fluxes, inventories and chronologies in sediments from Sepetiba and Ribeira Bays: a comparative study. **Marine Pollution Bulletin**, v.59, p. 123-133, 2009.
- GREENBERG, R. R.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. A. Neutron activation analysis: A primary method of measurement. **Spectrochimica Acta Part B**, v.66, p. 193-241, 2011.
- GUIMARÃES, G. M.; ZAHN, G. S.; FRANKLIN, R. L.; SILVA, P. C. S.; FÁVARO, D. I. T. Neutron Activation Analysis applied in sediment samples from the Guarapiranga Reservoir for metals and trace elements assessment. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.291, p. 155-161, 2012.
- INMETRO. **DOQ-CGCRE-008 Orientação sobre validação de métodos analíticos.** rev.3, 2007. 20p. Documento de caráter orientativo.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Use of research reactors for neutron activation analysis, **IAEA-TECDOC-1215**, p.1-6, Vienna, 2001.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Collection and preparation of bottom sediment samples for analysis of radionuclides and trace elements, **IAEA-TECDOC-1360**, Vienna, 2003.
- KNIE, J.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** 1. ed. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004.

- KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A.; OLIVEIRA, P. V. **Guia prático de perguntas e respostas sobre ICP OES, ICP-MS e preparo de amostras.** São Paulo, 2005. Apostila. Material particular.
- LARIZZATTI, F. E.; FAVARO, D. I. T.; MOREIRA, S. R. D.; MAZZILLI, B. P.; PIOVANO, E. L. Multielemental Determination by Instrumental Neutron Activation Analysis and Recent Sedimentation Rates Using ²¹⁰Pb Dating Method at Laguna del Plata, Cordoba, Argentina. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.249, n.1, p. 263-268, 2001.
- LIU, W. X.; CHEN, J. L.; LIN, X. M.; FAN, Y. S.; TAO, S. Residual concentrations of micropollutants in benthic mussels in the coastal areas of Bohai Sea, North China. **Environmental Pollution**, v.146, p. 470-477, 2007.
- MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. (Ed.). **Toxicologia aquática.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 318p.
- MOZETO, A. A.; UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F. (Ed.). **Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce.** São Carlos: Cubo Multimídia, 2006. 224p.
- NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. (Ed.). **Handbook on the toxicology of metals.** 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. 995p.
- OLIVEIRA, J. B. **Pedologia Aplicada.** Rio Claro: Unesp, 2005.
- PARVEZ, S.; VENKATARAMAN, C.; MUKHERJI, S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. **Environment International**, v.32, p. 265-268, 2006.
- PEREIRA, J. C.; GUIMARÃES-SILVA, A. K.; NALINI JÚNIOR, H. A.; PACHECO-SILVA, E.; LENA de, J. C. Distribuição, fracionamento e mobilidade de elementos traço em sedimentos superficiais. **Química Nova**, v.30, n.5, p. 1249-1255, 2007.
- PRESLEY, B. J.; TREFRY, J. H.; SHOKES, R. F. Heavy metal input to Mississippi delta sediments. **Water Air Soil Pollut**, v.13, p. 481-494, 1980.
- QUINÁGLIA, G. A. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistema estuarino da Baixada Santista.** 2006. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RAINBOW, P. S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, n.120, p. 497-507, 2002.
- RAINBOW, P. S.; LUOMA, S. N. Trace Metals in Aquatic Invertebrates. In: BEYER, W. N.; MEADOR, J. P. (Ed.). **Environmental contaminants in biota: interpreting tissue concentrations.** Boca Raton: CRC Press, 2. ed., 2011. p. 231-252.

- REZAEI, K.; ABDI, M. R.; SAION, E. B.; NAGHAVI, K.; SHAFAEI, M. A. Distribution of trace elements in the marine sediments along the South China Sea, Malaysia. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.287, 2011.
- SALOMONS, W.; STIGLIANI, W. M. (Ed.). **Biogeodynamics of pollutants in soils and sediments: risk assessment of delayed and non-linear responses**. Berlim: Springer, 1995. 353p.
- SANTOS, E. B. S. et al. **ICP-OES com vista axial e radial**. São Paulo, set. 2002. Não paginado. Apostila da disciplina Análise Espectroquímica por Emissão Atômica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- SARKAR, B. (Ed.). **Heavy Metals in the Environment**. New York: M. Dekker, 2002. 725p.
- TAYLOR, S. R.; Mc LENNAN, S. M. The continental crust: its composition and evolution. **Blackwell Scientific**, Palo Alto, 1985. p. 25-27.
- UMBUZEIRO, G. A.; RODRIGUES, P. F. O teste de toxicidade com bactérias luminescentes e o controle da poluição das águas. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.28, n.4, p. 444-449, 2004.
- USEPA – United States Environmental Protection Agency. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. 2000, 2. ed., **Method 600/R-99/064**, disponível em <<http://nepis.epa.gov/EPA/html/DLwait.htm?url=/Adobe/PDF/30003SBA.PDF>>, acessado em maio de 2009.
- USEPA – United States Environmental Protection Agency. Microwave Acid Digestion of Aqueous samples and extracts. **Method 3015A**, 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3015a.pdf>>, acessado em maio de 2009.
- USEPA – United States Environmental Protection Agency. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sluges, Soils, and Oils. **Method 3051A**, 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>>, acessado em maio de 2009.
- ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 1-13.
- ZHANG, J.; LIU, C. L. Riverine composition and Estuarine Geochemistry of Particulate Metals in China – Weathering Features, Anthropogenic Impact and Chemical Fluxes. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v.54, n.6, p. 1051-1070, 2002.