

Universidade de São Paulo
Centro de Energia Nuclear na Agricultura

**Avaliação ecotoxicológica e microbiológica da água de
nascentes urbanas no município de Piracicaba-SP**

Felipe Augusto Gasparotto

Piracicaba

2011

Felipe Augusto Gasparotto

Biólogo

**Avaliação ecotoxicológica e microbiológica da água de
nascentes urbanas no município de Piracicaba-SP**

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro

Piracicaba

2011

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Gasparotto, Felipe Augusto

Avaliação ecotoxicológica e microbiológica da água de nascentes urbanas no município de Piracicaba - SP / Felipe Augusto Gasparotto; orientadora Regina Teresa Rosim Monteiro. - - Piracicaba, 2011.

89 p.: fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Água de nascente 2. Coliformes 3. Ecotoxicologia 4. *Escherichia coli*
5. *Hydra* 6. Poluição de águas subterrâneas 7. Saúde pública I. Título

CDU 628.1:574.64

Dedico...

*Aos meus pais Marco e Marisa por todos os preciosos ensinamentos
e pelo apoio incondicional ao longo da minha vida.*

*À minha noiva Francielli por todo o amor, carinho,
compreensão e companheirismo desde o primeiro momento.*

Agradecimentos

A Deus, por me iluminar, guiar e proteger no percurso da minha vida.

A todas as pessoas da minha família, por me educarem e apoiarem em todos esses anos de convivência.

À Profa. Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro, pela amizade, dedicação, ensinamentos e orientação durante o curso de mestrado.

À Profa. Dra. Siu Mui Tsai, pela amizade, orientação durante a graduação e oportunidade para iniciar os estudos de pós-graduação.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pela oportunidade da realização do curso de Mestrado em Ciências.

Aos colegas do Serviço Municipal de Água e Esgoto de Piracicaba (SEMAE) - Ivan, Giulliano, Hélio, Rosenaldo e Carlos Ferreira - pelo auxílio nos experimentos e pelas importantes discussões sobre o trabalho.

Às demais pessoas que me ajudaram em algum aspecto desse trabalho: Rosângela e Tâmara (pela ajuda com os testes das hidras e fornecimento de alguns materiais), Fátima (pelo auxílio na realização das análises de metais), Lucas (pela ajuda na realização das análises estatísticas) e César (pela revisão final desta dissertação).

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação.

RESUMO

GASPAROTTO, F. A. **Avaliação Ecotoxicológica e Microbiológica da Água de Nascentes Urbanas no Município de Piracicaba-SP**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

A água ocupa um lugar específico entre os recursos naturais. É a substância mais abundante no planeta, embora disponível em diferentes quantidades, em diferentes lugares. A saúde humana está associada a um suprimento de água potável segura, adequada e acessível. Entretanto, sabe-se que boa parte da água doce disponível no planeta encontra-se em algum nível de contaminação, inclusive as águas de profundidade (nascentes). Tendo em vista a grande procura da população de Piracicaba por águas de nascentes é de fundamental importância o conhecimento de suas qualidades. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo principal avaliar parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos indicadores da qualidade da água de oito nascentes urbanas no município, em um período de doze meses. Os resultados demonstraram que as águas analisadas estão fora dos padrões de aceitação para consumo humano estabelecidos por legislação em, no mínimo, um parâmetro mensurado. A maioria das nascentes está localizada em áreas densamente urbanizadas do município e sofre interferência antropogênica acentuada, o que é determinante para influenciar a qualidade física, química e biológica dessas águas. Os parâmetros mais preocupantes no contexto da saúde pública foram o número de coliformes totais, *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas e os teores de nitrato, ferro e manganês. Os testes de ecotoxicidade com *Hydra attenuata* nas águas de quatro nascentes indicaram o aparecimento de efeitos subletais e/ou letais para esses organismos. A análise estatística multivariada mostrou que as variáveis que mais influenciaram na qualidade das amostras de água das oito nascentes nos quatro períodos de amostragem foram: coliformes totais, bactérias heterotróficas, *E. coli*, turbidez e oxigênio consumido. A ecotoxicidade para *H. attenuata* foi associada, nos efeitos crônicos, com a presença de amônia, nitrato, alumínio, manganês e dureza, sendo a letalidade associada a alta condutividade elétrica e variação de pH.

Palavras-chave: Nascentes. Saúde pública. Coliformes. Ecotoxicidade. *Hydra*. Água.

ABSTRACT

GASPAROTTO, F. A. **Ecotoxicological and Microbiological Evaluation of Urban Spring Waters in the city of Piracicaba-SP**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

Water plays a special role among natural resources. It is the most abundant substance on the planet, although available in different amounts and in different regions of the planet. Human health is associated with a safe, adequate and accessible supply of potable water. However, it was known that the most of fresh water available on earth presents some level of pollution, including springs waters. Given the high demand of the population from Piracicaba-SP by spring's waters, is crucial to know their qualities. Therefore, this study aimed evaluate the physical, chemical, microbiological, and ecotoxicological parameters that indicate the water quality of eight urban springs in the city, during a period of twelve months. The results showed that the analyzed waters are improper to human consumption according to the established legislation. Most springs are located in densely urbanized areas of the city and are subjected to severe anthropogenic interference, which is crucial to influence the water quality. The parameters of major concern in the context of public health were the number of coliforms, *Escherichia coli* and heterotrophic bacteria, as well as the nitrate, iron and manganese levels. The ecotoxicity tests using *Hydra attenuata* indicated the occurrence of sublethal and/or lethal effects in the water from four springs. The multivariate statistical analysis showed that the variables that most influenced the quality of water samples from eight springs in the four sampling time were: total coliforms, heterotrophic bacteria, *E. coli*, turbidity, and consumed oxygen. The ecotoxicity to *H. attenuata* was associated, in chronic effects, with the presence of ammonia, nitrate, aluminum, manganese, and hardness, while the mortality was associated with high electrical conductivity and pH variation.

Keywords: Springs; Public Health; Coliforms; Ecotoxicity; *Hydra*; Water.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Água na natureza: distribuição, importância e utilização	12
2.2 Água e saúde humana: contaminação, tratamento e qualidade	14
2.3 Estudos da qualidade da água de nascentes	19
2.4 Legislações: potabilidade da água para consumo e águas subterrâneas	20
2.5 Aspectos físicos e químicos da água	22
2.5.1 Condutividade elétrica	23
2.5.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	23
2.5.3 Cor	24
2.5.4 Turbidez	24
2.5.5 Oxigênio consumido	25
2.5.6 Dureza	25
2.5.7 Ferro e manganês	26
2.5.8 Alumínio	26
2.5.9 Amônia e nitrato	27
2.5.10 Sólidos dissolvidos totais	28
2.5.11 Elementos-traço: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco	28
2.6 Aspectos microbiológicos da água	31
2.7 Toxicologia aquática e testes de ecotoxicidade	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Caracterização da área de estudo e pluviometria	38
3.2 Procedimentos de coleta das amostras	42
3.3 Testes físicos e químicos	42
3.3.1 Condutividade elétrica	42
3.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH)	43

3.3.3 Cor	43
3.3.4 Turbidez	43
3.3.5 Oxigênio consumido	43
3.3.6 Dureza	44
3.3.7 Ferro	44
3.3.8 Alumínio	44
3.3.9 Manganês	45
3.3.10 Amônia e nitrato	45
3.3.11 Sólidos dissolvidos totais	46
3.3.12 Elementos-traço: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco	46
3.4 Testes microbiológicos	46
3.4.1 Análise qualitativa de coliformes totais e <i>E. coli</i> (presença/ausência)	47
3.4.2 Análise quantitativa de coliformes totais e <i>E. coli</i> (tubos múltiplos)	48
3.4.3 Contagem padrão de bactérias heterotróficas	49
3.5 Teste de ecotoxicidade com <i>H. attenuata</i>	50
3.6 Análise Estatística Multivariada	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 Testes físicos e químicos	54
4.2 Testes microbiológicos	61
4.2.1 Análise qualitativa de coliformes totais e <i>E. coli</i> (presença/ausência)	61
4.2.2 Análise quantitativa de coliformes totais e <i>E. coli</i> (tubos múltiplos)	62
4.2.3 Contagem padrão de bactérias heterotróficas	69
4.3 Teste de ecotoxicidade com <i>H. attenuata</i>	70
4.4 Análise Estatística Multivariada	73
5 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	81
ANEXO	88

1 INTRODUÇÃO

A água possui papel fundamental no meio ambiente e na vida humana, e nada a substitui, pois sem ela a vida não pode existir. Segundo Tundisi (1999), alterações na quantidade, distribuição e qualidade dos recursos hídricos ameaçam a sobrevivência humana e das demais espécies do planeta, estando o desenvolvimento econômico e social dos países fundamentados na disponibilidade de água de boa qualidade e na capacidade de sua conservação e proteção.

A saúde humana está vinculada a um suprimento de água potável segura, adequada, acessível e confiável. Entretanto, sabe-se que boa parte da água doce disponível no planeta encontra-se em algum estágio de contaminação (CETESB, 2002). A água potável é limpa e transparente e não contém microrganismos e substâncias que possam transmitir ou causar doenças aos seres humanos.

As águas de profundidade, mais conhecidas por águas de nascentes ou de bicas, são consideradas frequentemente como mais puras que as águas de superfície, pelo menos sob o ponto de vista bacteriológico (MARMO; JOLY, 1962). Entretanto, muitas pesquisas mostram que é relativamente comum estas águas apresentarem alto grau de contaminação. A natureza e a composição do solo, através do qual a água escoar, determinam as impurezas que ela apresenta, fato agravado pelo aumento da densidade demográfica e intensificação das atividades econômicas na indústria e agricultura, fazendo com que não se considere 100% segura nenhuma fonte de água superficial, devido ao arraste de substâncias químicas e microrganismos contidos nesse solo (RICHTER; NETTO, 1991).

O Serviço Municipal de Água e Esgoto de Piracicaba (SEMAE) possui 17 nascentes urbanas cadastradas, sendo que 12 delas são ativas e monitoradas mensalmente, através da análise qualitativa (presença/ausência) de coliformes totais e *Escherichia coli* pela técnica dos substratos cromogênicos.

A Portaria 518 do Ministério da Saúde (MS 518, de 25 de março de 2004) dispõe sobre procedimentos e responsabilidades inerentes ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano e estabelece seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Segundo essa norma, toda a água destinada ao consumo humano deve obedecer ao padrão de potabilidade e está sujeita à vigilância da qualidade da água (BRASIL, 2004).

Considerando que o presente trabalho também teve o objetivo de analisar as águas das nascentes em relação a aspectos ecotoxicológicos, seguem-se algumas importantes considerações. A Toxicologia Aquática tem sido definida como o estudo dos efeitos adversos

de agentes químicos e de outros produtos de natureza alheia ao ambiente sobre os organismos aquáticos. Tais estudos podem ser conduzidos através de testes de ecotoxicidade estabelecidos de acordo com os diversos objetivos que se procuram alcançar nestas avaliações (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os testes de ecotoxicidade devem ser considerados como uma análise indispensável no controle da poluição hídrica, pois fundamentam-se na utilização dos organismos vivos que são diretamente afetados pelos desequilíbrios que eventualmente ocorram nos ecossistemas aquáticos onde vivem, uma vez que as análises químicas apenas identificam e quantificam as substâncias presentes na água ou sedimento, mas não detectam os efeitos sobre a biota (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Um monitoramento de todas as substâncias tóxicas presentes em um corpo d'água é praticamente impossível em termos de tempo, equipamentos, pessoas capacitadas e custos. O monitoramento de algumas substâncias pode ser indicativo que muitas outras podem estar presentes, assim como, no mesmo conceito são realizadas as análises de coliformes termotolerantes para o conhecimento de quanto o corpo d'água está contaminado com esgoto doméstico e o risco de ocorrência de outros organismos patogênicos que ocorrem associados a esses (BLAISE; FÉRARD, 2005).

Os organismos utilizados para avaliação da toxicidade podem ser de diferentes níveis tróficos e/ou funcionais, de preferência os organismos devem pertencer aos níveis tróficos padronizados mundialmente. Como por exemplo, os produtores primários representados por *Lactuca sativa* e *Pseudokirchneriella subcapitata*; os consumidores primários, por *Daphnia magna* e os consumidores secundários, por *Hydra attenuata* (DUTKA, 1997).

H. attenuata são organismos atrativos para estudos ecotoxicológicos por apresentarem mudanças morfológicas em condições de progressiva intoxicação, sua estrutura corporal intensifica seu potencial de detectar toxicidade, ocorrem em vários ambientes de água doce, são de fácil cultivo e manutenção em laboratório e os testes são de simples realização e baixo custo (TROTIER et al., 1997). Arkhipchuk et al. (2006) mostraram que *H. attenuata* é um organismo adequado para avaliação da toxicidade em águas destinadas para consumo humano.

Tendo em vista a tradicional procura da população de Piracicaba-SP por águas de nascentes, é de fundamental importância o conhecimento de suas qualidades. Alguns trabalhos foram realizados nessas águas, apenas no que se refere à segurança microbiológica (BATISTA, 1996; GARBOGGINI, 1999; MELLADO, 2008). Os resultados do presente trabalho podem e devem servir para orientar e encorajar a Secretaria Municipal de Saúde e/ou

Vigilância Sanitária a tomarem medidas necessárias, desde a divulgação de informações a respeito da qualidade dessas águas até a intervenção ou não nas nascentes, além de fornecer um levantamento sobre a contaminação do lençol freático urbano. Nesse contexto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar parâmetros físicos e químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos indicadores da qualidade da água de oito nascentes urbanas no município de Piracicaba-SP, em um período de 12 meses (entre janeiro e dezembro de 2010).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Água na natureza: distribuição, importância e utilização

A água ocupa um lugar específico entre os recursos naturais. É a substância mais abundante no planeta, embora disponível em diferentes quantidades, em diferentes lugares. Somente cerca de 3% da água do planeta é doce, sendo que destes 3%, 75% estão alocados nas calotas polares e 10% em aquíferos subterrâneos (TUNDISI, 2005). Dessa já reduzida parcela, somente 0,3% corresponde à água existente em rios e em lagos. Logo, da pequena parcela de água doce disponível, uma proporção de apenas 0,3% apresenta-se como água superficial, de utilização mais fácil pelo ser humano (REBOUÇAS et al., 1999).

No Brasil estão disponíveis 12% de toda água doce, possivelmente potável, do mundo, e mesmo assim há conflitos relacionados ao seu uso e distribuição, já que 70% estão concentrados na bacia Amazônica, onde vivem 7% da população, e os 30% restantes estão distribuídos nas outras regiões do país, onde se concentram 93% da população brasileira (MESSIAS, 2008).

Tal realidade ressalta a grande importância da preservação da quantidade e da qualidade dos recursos hídricos disponíveis no planeta, em especial das águas superficiais, que a cada dia se tornam relativamente mais escassas em função do acelerado crescimento populacional, da má utilização dos recursos naturais pelo homem e da poluição (BRASIL, 2006a).

Nesse sentido, a água possui papel fundamental no meio ambiente e na vida humana, e nada a substitui, pois sem ela a vida não pode existir. Segundo Tundisi (1999), alterações na quantidade, distribuição e qualidade dos recursos hídricos ameaçam a sobrevivência humana e das demais espécies do planeta, estando o desenvolvimento econômico e social dos países fundamentados na disponibilidade de água de boa qualidade e na capacidade de sua conservação e proteção.

O “ciclo hidrológico” (Figura 1) é o nome dado à dinâmica permanente da água no planeta. Descreve as etapas ou os mecanismos (formas) de transferência ou movimentação da água em seus diversos estados (líquido, sólido ou gasoso), quais sejam, a precipitação, a evapotranspiração, a infiltração e o escoamento superficial (BRASIL, 2006a).

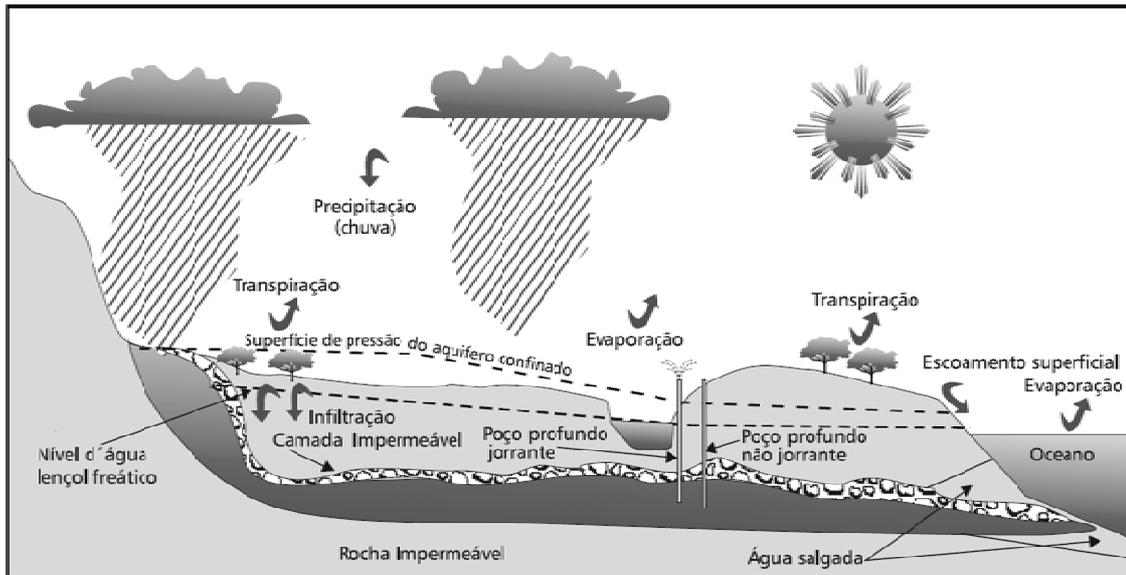


Figura 1 - O ciclo hidrológico e os principais processos de movimentação da água na natureza (precipitação, evapotranspiração, infiltração e escoamento superficial)
 Fonte: BRASIL, 2006a.

Ainda que o total da água que participa do ciclo hidrológico não se altere, por se tratar de um ciclo fechado, podem-se modificar a sua distribuição e a sua qualidade nos principais ambientes que retêm a água, ainda que transitoriamente (atmosfera, oceanos e continentes). Ou seja, mesmo não se alterando o total de chuva, se cuidados não forem tomados para a sua permanência em boas condições de uso no local de interesse, a água pode ficar cada vez mais inacessível àqueles que dela necessitam. Assim, a vegetação é de fundamental importância para a retenção da água nos continentes, pois dela depende a maior ou a menor quantidade da água que se infiltra no solo, parcela esta que garante as vazões das nascentes e dos poços, além de ser a grande responsável pela perenidade dos corpos de água superficial (BRASIL, 2006a).

Os seres humanos fazem a captação de água para seu consumo de mananciais apropriados, dependendo de sua localização geográfica e da facilidade de obtenção dessas águas. O termo “manancial”, segundo Minervino (1982), refere-se a todo corpo d’água utilizado para o abastecimento público de água para consumo humano, sendo subdividido em dois grupos: 1) mananciais subterrâneos: parte de um manancial que se encontra totalmente abaixo da superfície terrestre (aquíferos); 2) mananciais de superfície: parte de um manancial que se encontra totalmente acima da superfície terrestre (córregos, rios, lagos, reservatórios artificiais, dentre outros).

À medida que a economia foi se tornando mais complexa e diversificada, mais usos foram sendo adicionados aos recursos hídricos superficiais e subterrâneos, de tal forma que ao ciclo hidrológico, superpõe-se um ciclo hidrosocial de grande dimensão e impacto ecológico e econômico (TUNDISI, 2001). Este ciclo hidrosocial, que na verdade é uma adaptação do homem às diferentes características do ciclo hidrológico e, também às suas alterações, tem inúmeros impactos. As retiradas totais de água para múltiplos usos (suprimento doméstico, indústria e agricultura) mostram um crescimento considerável no volume de água utilizado nas últimas décadas (GLEICK, 1993; PIELOU, 1998; TUNDISI, 2001).

A natureza e a composição do solo, através do qual a água escoar, determinam as impurezas que ela apresenta, fato agravado pelo aumento da densidade demográfica e intensificação das atividades econômicas na indústria e agricultura, fazendo com que não se considere 100% segura nenhuma fonte de água superficial, devido ao arraste de substâncias químicas e microrganismos contidos nesse solo (RICHTER; NETTO, 1991).

Águas subterrâneas são corpos d'água que podem aflorar na superfície por meio de fontes ou bicas de água. A água das nascentes ou bicas é considerada, em seu estado natural, potencialmente de boa qualidade sanitária, pois os processos de filtração e depuração do subsolo promovem sua purificação durante a percolação no meio, e tem se tornado uma fonte alternativa de abastecimento para consumo, tanto em áreas rurais, quanto em áreas urbanas (OLIVEIRA; LOUREIRO, 2000).

2.2 Água e saúde humana: contaminação, tratamento e qualidade

A saúde humana está vinculada a um suprimento de água potável segura, adequada, acessível e confiável. Entretanto, sabe-se que boa parte da água doce disponível no planeta encontra-se em algum estágio de contaminação (CETESB, 2002). A água potável é limpa e transparente e não contém microrganismos e substâncias que possam transmitir ou causar doenças aos seres humanos. Em outras palavras, a água potável é aquela que pode ser consumida sem risco à saúde e sem causar rejeição ao consumo (BRASIL, 2006b).

Ao longo do tempo, com o aumento da população mundial, o fornecimento de água limpa e segura e a manutenção de sistemas de saneamento se tornaram mais complexos. O deslocamento da população de áreas rurais para as áreas urbanas pressionou a estrutura das cidades, gerando problemas como moradia inadequada, grande densidade demográfica, deficiências nos serviços de tratamento de água, coleta e tratamento de esgoto. Um sistema de

saneamento básico pode reduzir em 20% a 80 % a incidência de doenças infecciosas, inibindo a sua geração e interrompendo a sua transmissão (SELBORNE, 2001).

Segundo o SEMAE, a purificação da água realizada nas Estações de Tratamento de Água (ETAs) tem o objetivo de remover impurezas existentes na água, bem como eliminar microrganismos que causam mal à saúde, tornando-a própria ao consumo. Um *sistema de tratamento de água convencional* é constituído por algumas etapas: (1) *captação*: conjunto de estruturas e equipamentos construídos ou montados próximos a um manancial para tomada de água destinada ao Sistema do Abastecimento; (2) *medida de vazão*: quantificação da entrada de água na estação para tratamento (como as calhas Parshall); (3) *mistura rápida*: adição e homogeneização dos coagulantes com toda a massa líquida. Os produtos químicos mais utilizados são o sulfato férrico, o policloreto de alumínio, a cal hidratada, entre outros; (4) *floculação*: a adição dos coagulantes na água inicia uma reação que dará origem a um material floculento e gelatinoso, o qual se formará em maior intensidade nas câmaras de floculação, geralmente tanques de concreto provido de agitadores de baixa rotação. Estes flocos formados têm a propriedade de agrupar as partículas que estão em suspensão na água e também da matéria que está em forma coloidal (microrganismos, corantes, argila e matéria orgânica); (5) *decantação*: a água floculada é conduzida com uma velocidade muito baixa para tanques grandes, chamados decantadores, sendo que os flocos vão sedimentando ao longo desses tanques, tornando a água praticamente limpa no final deste processo; (6) *filtração*: após a decantação, a água é conduzida nos filtros, que são tanques que possuem camadas sucessivas de carvão antracito, areia fina, areia grossa, pedrisco e pedregulho, ficando retidos os flocos que passaram pelo decantador. Depois de várias horas de filtração, como é natural, a superfície filtrante, vai perdendo a eficiência e a rapidez de filtração devido ao acúmulo de impurezas ali retidas. Neste ponto, o filtro é desativado temporariamente e procede-se a lavagem, a qual é feita pela injeção de água limpa em contra-corrente, ou seja, de baixo para cima e; (7) *dosagem de produtos químicos*: terminado o processo de filtração, a água recebe o cloro (para eliminar os microrganismos que ainda possam existir na água, evitando desta maneira, várias doenças que poderiam ser transmitidas à população), a cal (para corrigir o pH final da água que sai da ETA, evitando problemas nas redes de distribuição) e o flúor (para diminuir a incidência de cáries dentárias). Todos estes produtos devem ser corretamente utilizados para que produzam os efeitos desejados (SEMAE, 2005).

Para Rebouças (1999), com o rápido crescimento da população, urbanização, industrialização e intensificação da produção agrícola, paralelamente ao uso de defensivos agrícolas, a partir de 1940, o controle da qualidade total das águas de consumo tornou-se mais

ramificado, compreendendo aspectos físicos, bacteriológicos e químicos cada vez mais complexos.

Ao contrário do que muitos imaginam, a água é uma substância muito complexa. Por ser um excelente solvente, até hoje ninguém pôde vê-la em estado de absoluta pureza. Quimicamente sabe-se que, mesmo sem impurezas, a água é uma mistura de muitas substâncias. São inúmeras as impurezas que se apresentam nas águas naturais, várias delas inócuas, poucas desejáveis e algumas extremamente perigosas. Entre as impurezas nocivas encontram-se vírus, bactérias, parasitas, substâncias tóxicas e, até mesmo, elementos radioativos (RICHTER; NETTO, 1991).

Segundo a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 2002) uma série de doenças pode ser associada à água, seja em decorrência de sua contaminação por excretas humanas ou de outros animais, seja pela presença de substâncias químicas nocivas à saúde humana.

As doenças relacionadas com a água podem ser subdivididas em dois grupos: 1) *doenças de transmissão hídrica*: são aquelas em que a água atua como veículo do agente infeccioso. Os microrganismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) atingem a água através das excretas de pessoas ou animais infectados, sendo que as doenças relacionadas causam problemas, principalmente, no aparelho intestinal humano; 2) *doenças de origem hídrica*: são aquelas causadas por determinadas substâncias químicas, orgânicas ou inorgânicas, presentes na água em concentrações inadequadas, em geral superiores às especificadas nos padrões de consumo humano. Essas substâncias podem existir naturalmente no manancial ou resultar da poluição. Podem-se citar o saturnismo, provocado pelo excesso de chumbo, a meta-hemoglobinemia em crianças, decorrente da ingestão excessiva de nitrato, e outras doenças de efeitos a curto ou longo prazo (VERTONI; GALLO, 1994).

Nos dias atuais há grande preocupação com substâncias bioativas que aparecem nas águas naturais em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , podendo ser oriundas da contaminação por esgotos domésticos, industriais ou descarte indevido no solo ou água. Esses micropoluentes (contaminantes emergentes) têm despertado bastante interesse na comunidade científica (LOPES et al., 2010), já que eles representam um risco concreto à saúde dos ecossistemas, considerando a sua diversidade e a imensa carência no entendimento das suas fontes, comportamento, distribuição, níveis e efeitos ambientais.

São conhecidos mais de 3 milhões de compostos orgânicos sintéticos, sendo que cerca de 100 mil destes compostos são produzidos regularmente, um equivalente de 200 milhões de toneladas por ano, dos quais 20-30% poderiam chegar aos ambientes aquáticos. Fármacos,

produtos de higiene pessoal, interferentes endócrinos (principalmente hormônios estrogênicos) e poluentes orgânicos persistentes (POP) são as classes de substâncias mais investigadas em relação aos efeitos no meio ambiente e na saúde dos seres humanos (LOPES et al., 2010). Em relação aos estrogênicos, alguns estudos demonstraram que a exposição prolongada a esses hormônios está relacionada com a feminilização de peixes machos (JOBILING et al., 1998), o aumento da incidência de câncer de mama (DASTON et al., 1997), de testículos e da infertilidade masculina (SHARPE; SKAKKEBAEK, 1993). Outros compostos como quimioterápicos antimicrobianos (antibióticos) e desinfetantes estão supostamente relacionados com distúrbios ecológicos em águas naturais, favorecendo a seleção de bactérias resistentes aos mesmos, chamadas de *superbugs* (MASTERS, 2001).

Segundo dados compilados de vários autores, as substâncias emergentes que têm sido reportadas como desreguladores endócrinos ou com potencial de ação desreguladora pertencem ao grupo dos pesticidas (atrazina, lindano, triclosan, dibromocloropropano e pentaclorofenol), dos esteróides naturais (androgênicos, estrogênicos e fitoestrogênicos), dos fármacos (fluoxetina, tamoxifan, fluvastatina, medetomidina, propranolol e hormônios sintéticos) e dos produtos químicos industriais (alquifenóis, ftalatos, bisfenol-A, estireno, retardantes de chama bromados e surfactantes) (FENT et al., 2006; GROSS et al., 2003; KHETAN; COLLINS, 2007; McGOVERN; McDONALD, 2003; RICHARDSON, 2004).

O conceito de qualidade da água relaciona-se a seu uso e características por ela apresentadas, determinadas pelas substâncias presentes. A cada uso corresponde uma qualidade e quantidade, necessárias e suficientes. Seu padrão de potabilidade é composto por um conjunto de parâmetros que lhe confere qualidade própria para o consumo humano (BRASIL, 2006b).

Até meados do século XX, a qualidade da água para consumo humano era avaliada essencialmente através das suas características organolépticas, tendo como base o senso comum de que se apresentasse límpida, agradável ao paladar e sem odor desagradável. No entanto, este tipo de avaliação foi se revelando falível em termos de proteção contra microrganismos patogênicos e contra substâncias químicas perigosas presentes na água. Tornou-se, assim, imperativo estabelecer normas paramétricas que traduzissem, de forma objetiva, as características que águas destinadas ao consumo humano deveriam obedecer (MENDES, 2006).

Na visão da OMS, os riscos à saúde impostos pelas substâncias químicas (de efeito crônico e longo prazo, por vezes não muito bem fundamentados do ponto de vista toxicológico e epidemiológico) não devem ser comparados aos riscos microbiológicos de

transmissão de doenças (de efeito agudo e curto prazo, inquestionáveis e de grande impacto). Em termos gerais, guardada a importância relativa e específica de cada um, a garantia da qualidade microbiológica da água deve receber prioridade (WHO, 2004).

A água pode veicular um elevado número de enfermidades e essa transmissão pode se dar por diferentes mecanismos. O mecanismo de transmissão de doenças mais comumente lembrado e diretamente relacionado à qualidade da água é o da ingestão, por meio do qual um indivíduo sadio ingere água que contenha componente nocivo à saúde e a presença desse componente no organismo humano provoca o aparecimento de doença. Um segundo mecanismo refere-se à quantidade insuficiente de água, gerando hábitos higiênicos insatisfatórios e daí doenças relacionadas à inadequada higiene (dos utensílios de cozinha, do corpo, do ambiente domiciliar). Outro mecanismo compreende a situação da água no ambiente físico, proporcionando condições propícias à vida e à reprodução de vetores ou reservatórios de doenças. Um importante exemplo é o da água empoçada, contaminada por esgotos, como habitat para o molusco hospedeiro intermediário da esquistossomose. Outro exemplo desse mecanismo é o da água como habitat de larvas de mosquitos vetores de doenças, como o mosquito *Aedes aegypti* e a dengue (BRASIL, 2006c).

É importante destacar que tanto a qualidade da água quanto a sua quantidade e regularidade de fornecimento são fatores determinantes para o acometimento de doenças no homem. Conforme mostram os mecanismos de transmissão descritos, a insuficiente quantidade de água pode resultar em (1) deficiências na higiene; (2) acondicionamento da água em vasilhames, para fins de estocagem, podendo esses recipientes tornarem-se ambientes para procriação de vetores e vulneráveis à deterioração da qualidade, e (3) procura por fontes alternativas de abastecimento, que constituem potenciais riscos à saúde, seja pelo contato das pessoas com tais fontes (risco para esquistossomose, por exemplo), seja pelo uso de águas de baixa qualidade microbiológica (risco de adoecer pela ingestão) (BRASIL, 2006c).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% das doenças que surgem nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento ocorrem devido ao consumo de água contaminada ou devido ao contato com ela. Além disso, mais de 15 milhões de crianças morrem todo ano de doenças transmitidas pela água, direta ou indiretamente, pela falta ou deficiência dos sistemas de abastecimento de águas e esgotos nos países (WHO, 2004).

2.3 Estudos da qualidade da água de nascentes

As águas de profundidade, de nascentes ou de bicas, são consideradas frequentemente, como mais puras que as águas de superfície, pelo menos sob o ponto de vista bacteriológico (MARMO; JOLY, 1962). Entretanto, muitas pesquisas mostram que é relativamente comum estas águas apresentarem alto grau de contaminação, em relação aos parâmetros microbiológicos e químicos. Há pouca pesquisa no campo da ecotoxicologia e química da água de nascentes, tendo o presente trabalho a preocupação de complementar os estudos microbiológicos (comuns na literatura) com análises de elementos químicos e um ensaio de ecotoxicidade.

Batista (1996) avaliou a qualidade da água de oito nascentes em Piracicaba-SP em relação à presença de bactérias indicadoras de contaminação fecal, durante um período de 10 meses. Em sete nascentes analisadas, constatou-se que a água estava fora dos padrões de potabilidade bacteriológica, sendo impróprias ao consumo humano. Garboggini (1999) repetiu o estudo nas mesmas nascentes, porém com metodologias diferentes para detecção de microrganismos distintos. Em todas as nascentes foram encontrados coliformes totais e *E. coli*, embora não foi detectada a presença de *Salmonella* e *Campylobacter*. Ainda assim, as águas dessas nascentes estavam impróprias ao consumo humano.

Mellado (2008) investigou alguns parâmetros de qualidade da água de 12 nascentes, em Piracicaba-SP e buscou entender os motivos que levam a população a ter uma preferência ao consumo desse tipo de água, sendo que 100% da população piracicabana é abastecida por um sistema público de abastecimento, controlado pelo Serviço Municipal de Água e Esgoto de Piracicaba (SEMAE). Os resultados indicaram contaminação por coliformes totais em todas as nascentes e por *E. coli* em 11 das 12 nascentes analisadas. Os resultados obtidos por entrevista aos consumidores das nascentes indicaram que 100% preferem esse tipo de água por apresentar melhores características organolépticas (em especial a ausência de cheiro e gosto de cloro). Também foi citada a facilidade e economia na obtenção dessa água pelos consumidores de baixo nível sócio-econômico.

Faria (2006) caracterizou a qualidade da água de 12 bicas no município de Taubaté-SP, onde quatro delas não apresentaram condições de potabilidade (do ponto de vista microbiológico) e apenas uma não apresentou qualidade para consumo no que se refere aos aspectos químicos. Também foram realizadas análises parasitológicas, as quais não indicaram contaminação nessas 12 bicas. A autora salientou que não foi identificado nenhum tipo de monitoramento, pela Vigilância Sanitária, da qualidade dessas águas de consumo humano.

Freitas et al. (2001), numa pesquisa realizada nos municípios de Duque de Caxias e São Gonçalo (RJ), constataram que aproximadamente 32% e 35% da população eram abastecidas por águas de poços e nascentes, respectivamente. Através de análises microbiológicas destas águas, verificaram que mais de 50% das amostras nestas duas cidades apresentaram coliformes termotolerantes em níveis muito altos, expondo a população consumidora a diversos riscos para a saúde.

Gomes et al. (2002) constataram a presença de coliformes totais em 100% e coliformes termotolerantes em 85,7% das amostras analisadas, num estudo da qualidade da água de sete nascentes naturais de uso público, nos municípios de Sorocaba e Votorantim (SP). Também encontraram contaminação parasitológica por oocistos de *Cryptosporidium* e amebas, o que torna estas águas ainda mais perigosas para consumo.

Silva e Araújo (2003) identificaram, em pesquisa realizada com águas de mananciais subterrâneos no município de Feira de Santana-BA, que 91% das amostras analisadas apresentaram coliformes totais, e 66% coliformes termotolerantes, expondo a população aos riscos de saúde inerentes ao consumo de águas contaminadas.

2.4 Legislações: potabilidade da água para consumo e águas subterrâneas

Os padrões que determinam a qualidade da água variam conforme as condições de cada país, e, dentro de um mesmo país, as autoridades competentes modificam os padrões e parâmetros conforme as condições regionais (CETESB, 2002).

A Portaria 518 do Ministério da Saúde (MS 518, de 25 de março de 2004) dispõe sobre procedimentos e responsabilidades inerentes ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano e estabelece seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Segundo essa norma, toda a água destinada ao consumo humano deve obedecer ao padrão de potabilidade e está sujeita à vigilância da qualidade da água (BRASIL, 2004).

Essa legislação trouxe a incorporação do princípio da descentralização das ações do SUS, a visão sistêmica da qualidade da água, a definição clara de deveres e responsabilidades de cada esfera de governo e dos responsáveis pela produção e distribuição de água e principalmente a garantia ao consumidor do direito à informação sobre a qualidade de água a ele fornecida, seja pelos sistemas e soluções alternativas de abastecimento de água ou pelo setor de saúde (MENDES, 2006).

A Portaria 518/MS (2004) é amplamente reconhecida como um avanço em termos de instrumento normativo, por: (1) incorporar o que havia de mais recente no conhecimento científico em termos de tratamento e controle de qualidade da água para consumo humano; (2) assumir caráter efetivo e simultâneo de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano; (3) ampliar os conceitos de potabilidade e de controle de qualidade da água para além do estabelecimento do padrão de potabilidade e de exigências de controle laboratorial; (4) incorporar a abordagem preventiva de avaliação e gestão de risco (BASTOS et al., 2001).

A Portaria 518/MS (2004) atribui também deveres e obrigações para diferentes níveis governamentais, sendo que as secretarias municipais de saúde têm o papel de exercer a vigilância da qualidade da água. Sendo assim, a secretaria da saúde do município deve verificar, continuamente, se a água fornecida à população atende aos padrões de potabilidade. A atividade de vigilância da qualidade da água para consumo humano envolve desde a avaliação do grau de risco que os sistemas representam à saúde pública em função da origem da água, do tratamento dado a essa água e dos procedimentos adotados em todo o processo até a verificação de queixas e denúncias feitas pelos consumidores em relação à água. Para que todo esse processo funcione, a legislação prevê uma série de ações que devem ser implementadas pelas autoridades responsáveis (MENDES, 2006).

A Resolução 396 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 396, de 03 de abril de 2008) dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento, prevenção e controle da poluição das águas subterrâneas. A referida resolução classifica as águas subterrâneas em uma classe especial e outras cinco classes (em ordem decrescente de qualidade), de acordo com parâmetros de qualidade determinados, definindo desta forma seus usos preponderantes (CONAMA, 2008):

I - Classe Especial: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses destinadas à preservação de ecossistemas em unidades de conservação de proteção integral e as que contribuam diretamente para os trechos de corpos de água superficial enquadrados como classe especial;

II - Classe 1: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, sem alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que não exigem tratamento para quaisquer usos preponderantes devido às suas características hidrogeoquímicas naturais;

III - Classe 2: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, sem alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que podem exigir tratamento adequado, dependendo do uso preponderante, devido às suas características hidrogeoquímicas naturais;

IV - Classe 3: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, para as quais não é necessário o tratamento em função dessas alterações, mas que podem exigir tratamento adequado, dependendo do uso preponderante, devido às suas características hidrogeoquímicas naturais;

V - Classe 4: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, e que somente possam ser utilizadas, sem tratamento, para o uso preponderante menos restritivo;

VI - Classe 5: águas dos aquíferos, conjunto de aquíferos ou porção desses, que possam estar com alteração de sua qualidade por atividades antrópicas, destinadas a atividades que não têm requisitos de qualidade para uso.

Segundo essa Resolução, dentre os parâmetros selecionados para o enquadramento em classes, deverão ser considerados, no mínimo, Sólidos Totais Dissolvidos, Nitrato e Coliformes Termotolerantes (CONAMA, 2008). De acordo com os resultados obtidos pelas pesquisas supramencionadas, provavelmente as águas das nascentes piracicabanas estariam enquadradas ou na Classe 3 ou na 4. Uma análise mais detalhada de cada nascente é necessária para um enquadramento mais preciso dentro desta legislação.

2.5 Aspectos físicos e químicos da água

A portaria 518/MS (2004) designa valores máximos permitidos (VMP) para cada parâmetro de qualidade da água de consumo humano (BRASIL, 2004). Cada parâmetro físico e químico analisado neste estudo (condutividade, pH, cor, turbidez, oxigênio consumido, dureza, ferro, alumínio, manganês, amônia, nitrato, sólidos dissolvidos totais, bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco) tem suas peculiaridades e nos permite caracterizar certos aspectos da qualidade da água.

2.5.1 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da água indica sua capacidade de transmitir a corrente elétrica em função da presença de substâncias dissolvidas que se dissociam em ânions e cátions. Quanto maior a concentração iônica da solução, maior é a oportunidade para a ação eletrolítica e, portanto, maior a capacidade em conduzir corrente elétrica (BRASIL, 2006c). A condutividade elétrica da água deve ser expressa em unidades de resistência (*mho* ou *S*) por unidade de comprimento (geralmente *cm* ou *m*). Até algum tempo atrás, a unidade mais usual para expressão da resistência elétrica da água era o *mho* (inverso de *ohm*), mas atualmente é recomendável a utilização da unidade “*S*” (Siemens). Enquanto as águas naturais têm condutividade na faixa de 10 a 100 $\mu\text{S cm}^{-1}$, em ambientes poluídos por esgotos domésticos ou industriais os valores podem variar de 100 a 10.000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (BRASIL, 2006c; CETESB, 1995; RICHTER; NETO, 1991).

2.5.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) representa a intensidade das condições ácidas ou alcalinas do meio líquido por meio da medição da presença de íons hidrogênio (H^+). O valor do pH influi na distribuição das formas livre e ionizada de diversos compostos químicos, além de contribuir para um maior ou menor grau de solubilidade das substâncias e de definir o potencial de toxicidade de vários elementos (APHA, 2005; BRASIL, 2006c). As alterações de pH podem ter origem natural (dissolução de rochas, fotossíntese) ou antropogênica (despejos domésticos e industriais). Para a adequada manutenção da vida aquática, o pH deve situar-se geralmente na faixa de 6 a 9. Existem, no entanto, várias exceções a essa recomendação, provocadas por influências naturais, como é o caso de rios de cores intensas, em decorrência da presença de ácidos húmicos provenientes da decomposição de vegetação. Nessa situação, o pH das águas é sempre ácido (valores de 4 a 6), como pode ser observado em alguns cursos d'água na planície amazônica. A acidificação das águas pode ser também um fenômeno derivado da poluição atmosférica, mediante complexação de gases poluentes com o vapor d'água, provocando o predomínio de precipitações ácidas. Podem também existir ambientes aquáticos naturalmente alcalinos em função da composição química de suas águas, como é o exemplo de alguns lagos africanos nos quais o pH chega a ultrapassar o valor de 10 (BRASIL, 2006c). O pH pode ser considerado como uma das variáveis ambientais mais importantes, e é

uma das mais difíceis de se interpretar. Tal complexidade é resultante dos inúmeros fatores que podem influenciá-lo, podendo estar relacionado a fontes de poluição difusa (MESSIAS, 2008).

2.5.3 Cor

A cor da água é produzida pela reflexão da luz em partículas minúsculas de dimensões inferiores a 1 μm (denominadas colóides) finamente dispersas, de origem orgânica (ácidos húmicos e fúlvicos) ou mineral (resíduos industriais, compostos de ferro e manganês). Corpos d'água de cores naturalmente escuras são encontrados em regiões ricas em vegetação, em decorrência da maior produção de ácidos húmicos. A determinação da intensidade da cor da água é feita comparando-se a amostra com um padrão de cobalto-platina, sendo o resultado fornecido em unidades de cor, também chamadas unidade Hazen (uH). As águas naturais apresentam, em geral, intensidades de cor variando de 0 a 200 unidades (BRASIL, 2006c). Para efeito de caracterização de águas de consumo, distingue-se a cor aparente, na qual se consideram as partículas suspensas, da cor verdadeira. A determinação da segunda realiza-se após centrifugação da amostra. Para atender ao padrão de potabilidade, segundo a Portaria 518/MS (2004), a água de consumo humano deve apresentar intensidade de cor aparente inferior a 15 unidades (VMP = 15 uH) (BRASIL, 2004).

2.5.4 Turbidez

A turbidez pode ser definida como uma medida do grau de interferência à passagem da luz através do líquido. A alteração à penetração da luz na água decorre da presença de material em suspensão, sendo expressa por meio de unidades de turbidez (uT) (APHA, 2005; BRASIL, 2006c). A turbidez da água é atribuída principalmente às partículas sólidas em suspensão, que diminuem a claridade e reduzem a transmissão da luz do meio. Sofre influência da presença de plânctons, detritos orgânicos e outras substâncias como zinco, ferro, compostos de manganês e areia, resultantes do processo natural de erosão e escoamento superficial ou da ação antrópica, como lançamento de esgotos e efluentes das atividades industriais. No tratamento de água, a turbidez pode reduzir a eficiência da cloração, pela proteção física dos microrganismos do contato direto com os desinfetantes (DELLAMATRICE, 2005). Para efeitos de aceitação para consumo humano, a turbidez da água não pode ultrapassar cinco unidades de turbidez (VMP = 5 uT) (BRASIL, 2004).

2.5.5 Oxigênio consumido

A determinação do Oxigênio Consumido (OC) em amostras de água fornece a quantidade de material orgânico que é oxidável nas condições impostas durante o ensaio. A informação sobre a quantidade do OC é útil para a definição de alterações da qualidade da água, além de indicar o desenvolvimento de microrganismos na mesma. Esse termo tem o mesmo sentido químico que a Demanda Química de Oxigênio (DQO), mas o mesmo é mais utilizado quando o oxidante é o permanganato. Assim, o oxigênio consumido é um indicador da concentração de matéria orgânica (como a DQO), mas a oxidação é realizada em condições menos energéticas. A oxidação com permanganato é mais utilizada para águas limpas, com baixa concentração de matéria orgânica. A DQO é mais utilizada para concentrações acima de 5 mg L^{-1} de O_2 (águas com maior teor de matéria orgânica) e o permanganato para concentrações inferiores a 5 mg L^{-1} de O_2 (águas mais limpas e avaliação de potabilidade) (VALENTE et al., 1997).

2.5.6 Dureza

A dureza indica a concentração de cátions multivalentes em solução na água. Os cátions mais frequentemente associados à dureza são os de cálcio e magnésio (Ca^{2+} , Mg^{2+}) e, em menor escala, ferro (Fe^{2+}), manganês (Mn^{2+}), estrôncio (Sr^{2+}) e alumínio (Al^{3+}). A origem da dureza das águas pode ser natural (por exemplo, dissolução de rochas calcárias, ricas em cálcio e magnésio) ou antropogênica (lançamento de efluentes industriais). A dureza da água é expressa em mg L^{-1} de equivalente em carbonato de cálcio (CaCO_3) e pode ser classificada em: mole ou branda ($< 50 \text{ mg L}^{-1}$ de CaCO_3); dureza moderada (entre 50 mg L^{-1} e 150 mg L^{-1} de CaCO_3); dura (entre 150 mg L^{-1} e 300 mg L^{-1} de CaCO_3); e muito dura ($> 300 \text{ mg L}^{-1}$ de CaCO_3). Existem evidências de que a ingestão de águas duras contribui para uma menor incidência de doenças cardiovasculares. Em corpos d'água de reduzida dureza, a biota é mais sensível à presença de substâncias tóxicas, já que a toxicidade é inversamente proporcional ao grau de dureza da água (BRASIL, 2006c). Para águas de consumo, o padrão de potabilidade estabelece o limite máximo de 500 mg L^{-1} CaCO_3 (BRASIL, 2004). Valores dessa magnitude usualmente não são encontrados em águas superficiais no Brasil, podendo ocorrer em aquíferos subterrâneos (BRASIL, 2006c).

2.5.7 Ferro e manganês

Os elementos ferro e manganês, por apresentarem comportamento químico semelhante, podem ter seus efeitos na qualidade da água abordados conjuntamente. Muito embora esses elementos não apresentem inconvenientes à saúde nas concentrações normalmente encontradas nas águas naturais, eles podem provocar problemas de ordem estética (manchas em roupas ou em vasos sanitários) ou prejudicar determinados usos industriais da água (BRASIL, 2006c; MACÊDO, 2001). O padrão de potabilidade das águas determina valores máximos de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ para o ferro e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para o manganês (BRASIL, 2004). Deve ser destacado que as águas de muitas regiões brasileiras, em função das características geoquímicas das bacias de drenagem, apresentam naturalmente teores elevados de ferro e manganês, que podem até mesmo superar os limites fixados pelo padrão de potabilidade. Altas concentrações desses elementos são também encontradas em situações de ausência de oxigênio dissolvido, como, por exemplo, em águas subterrâneas ou nas camadas mais profundas dos lagos. Em condições de anaerobiose, o ferro e o manganês apresentam-se em sua forma solúvel (Fe^{2+} e Mn^{2+}), voltando a precipitar-se quando em contato com o oxigênio (oxidação a Fe^{3+} e Mn^{4+}) (BRASIL, 2006c).

2.5.8 Alumínio

O alumínio e seus sais são usados no tratamento da água, como aditivo alimentar, na fabricação de latas, telhas, papel alumínio, na indústria farmacêutica, entre outros. O alumínio atinge a atmosfera como particulado, derivado de poeiras dos solos e por erosão, originado da combustão do carvão. Na água, o metal pode ocorrer em diferentes formas e é influenciado pelo pH, temperatura e presença de fluoretos, sulfatos, matéria orgânica e outros ligantes. A solubilidade é baixa em pH entre 5,5 e 6,0. As concentrações de alumínio dissolvido em águas com pH neutro variam de $0,001$ a $0,05 \text{ mg L}^{-1}$, mas aumentam para $0,5-1 \text{ mg L}^{-1}$ em águas mais ácidas ou ricas em matéria orgânica. Em águas com extrema acidez, afetadas por descargas de mineração, as concentrações de alumínio dissolvido podem ser maiores que 90 mg L^{-1} . O alumínio deve apresentar maiores concentrações em profundidade, onde o pH é menor e pode ocorrer anaerobiose. O aumento da concentração de alumínio está associado com o período de chuvas e, portanto, com a alta turbidez. A principal via de exposição humana não ocupacional é pela ingestão de alimentos e água. Não há indicações de que o alumínio apresente toxicidade aguda por via oral, apesar de ampla ocorrência em alimentos,

água potável e medicamentos e também não há indicação de carcinogenicidade para esse elemento químico (CETESB, 2010). A Portaria 518/MS (2004) estabelece um VMP para o alumínio de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ como padrão para água de consumo humano (BRASIL, 2004).

2.5.9 Amônia e nitrato

O nitrogênio é considerado um dos elementos mais importantes no metabolismo dos ecossistemas aquáticos e sua concentração pode limitar a produção primária, aumentar a proliferação de microrganismos e apresentar potencial tóxico aos organismos aquáticos. Nos processos de degradação do nitrogênio são formados compostos como: amônia, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, entre outros. O nitrato (NO_3^-) está presente na maioria das águas superficiais e é oriundo de fontes humanas, animais e dos fertilizantes, por isso pode refletir a condição de saneamento da água. O nitrogênio amoniacal constitui-se na somatória da amônia (NH_3) com o íon amônio (NH_4^+), encontrado naturalmente nas águas superficiais ou subterrâneas resultante da decomposição da matéria orgânica, de forma que altos níveis indicam poluição doméstica ou industrial (BRIGANTE; ESPÍNDOLA, 2003; MACÊDO, 2001). O ciclo do nitrogênio conta com a intensa participação de bactérias, tanto no processo de nitrificação (oxidação bacteriana do amônio a nitrito e deste a nitrato) quanto no de desnitrificação (redução bacteriana do nitrato ao gás nitrogênio). Em condições fortemente alcalinas, ocorre o predomínio da amônia livre, que é bastante tóxica a vários organismos aquáticos. Já o nitrato, em concentrações elevadas, está associado a dois efeitos adversos à saúde: a indução à metaemoglobinemia, especialmente em crianças, e a formação potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas (AWWA, 1990; BOUCHARD et al., 1992; MATO, 1996; OMS, 1978). A metaemoglobinemia é uma doença em que o nitrito se liga à molécula de hemoglobina, a qual torna-se incapaz de transportar oxigênio para as células do organismo, podendo resultar em cianose, anóxia cerebral e morte. O desenvolvimento dessa doença a partir do nitrato nas águas potáveis depende da sua conversão bacteriana para nitrito durante a digestão, o que pode ocorrer na saliva e no trato gastrointestinal (AWWA, 1990; MATO, 1996; OMS, 1978). As crianças pequenas, principalmente as menores de 3 meses de idade, são bastante susceptíveis ao desenvolvimento desta doença devido às condições mais alcalinas do seu sistema gastrointestinal, fato também observado em pessoas adultas que apresentam gastroenterites, anemia e mulheres grávidas. As nitrosaminas e nitrosamidas podem surgir como produtos de reação entre o nitrito ingerido ou formado pela redução bacteriana do nitrato, e as aminas secundárias ou terciárias e amidas presentes nos alimentos.

O pH ótimo para a reação de nitrosaminação é entre 2,5 a 3,5, faixa semelhante à encontrada no estômago humano após a ingestão de alimentos (AWWA, 1990). Tanto as nitrosaminas como as nitrosamidas estão relacionadas com o aparecimento de tumores em animais de laboratório (BOUCHARD et al., 1992). Para as águas de consumo humano, os valores máximos permitidos para NH_3 e NO_3^- são, respectivamente, 1,5 e 10 mg L^{-1} (BRASIL, 2004).

2.5.10 Sólidos dissolvidos totais

Sólidos dissolvidos são constituídos por partículas de diâmetro inferior a 10^{-3} μm e que permanecem em solução mesmo após a filtração. Já o termo *sólidos em suspensão* pode ser definido como as partículas passíveis de retenção por processos de filtração. A entrada de sólidos na água pode ocorrer de forma natural (processos erosivos, organismos e detritos orgânicos) ou antropogênica (lançamento de lixo e esgotos). Muito embora os parâmetros turbidez e sólidos totais estejam associados, eles não são absolutamente equivalentes. Uma pedra, por exemplo, colocada em um copo de água limpa confere àquele meio uma elevada concentração de sólidos totais, mas sua turbidez pode ser praticamente nula (BRASIL, 2006c). Nas águas naturais os sólidos dissolvidos estão constituídos principalmente por carbonatos, bicarbonatos, cloretos, sulfatos, fosfatos, nitratos de cálcio, magnésio e potássio. Os minerais contidos nas águas naturais podem ser diluídos (águas de chuva) ou aumentar pela adição de despejos industriais (PROBST & SUCHET, 1992). O padrão de potabilidade refere-se apenas aos *sólidos totais dissolvidos* (limite de 1000 mg L^{-1}), já que essa parcela reflete a influência de lançamento de esgotos, além de afetar a qualidade organoléptica da água (BRASIL, 2004).

2.5.11 Elementos-traço: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco

Dentre as substâncias químicas, os elementos-traço têm recebido atenção especial por se tratarem de poluentes conservativos, não biodegradáveis, os quais atravessam o ciclo hidrológico global, no qual a água é o principal caminho. O acúmulo de elementos químicos nos ecossistemas aquáticos tem despertado interesse sob vários aspectos, como destino, efeitos e comportamento desses contaminantes nas cadeias alimentares (GARDOLINSKI, 1998).

Esses elementos reagem com ligantes difusores, com macromoléculas e com ligantes presentes em membranas celulares o que, muitas vezes, lhes conferem as propriedades de

bioacumulação, biomagnificação na cadeia alimentar, persistência no ambiente e distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos. As bioacumulações e biomagnificações se encarregam de transformar concentrações consideradas normais em concentrações tóxicas para as diferentes espécies da biota e para o homem. A persistência garante os efeitos ao longo do tempo ou de longo prazo, mesmo depois de interrompidas as emissões (TAVARES; CARVALHO, 1992).

Os elementos-traço podem ser encontrados naturalmente no meio ambiente e nos organismos vivos em pequenas concentrações, na ordem de partes por bilhão (ppb) a partes por milhão (ppm). Alguns destes elementos são essenciais aos seres vivos, em quantidades mínimas, em processos fisiológicos (como o cobre e o zinco). Outros elementos, como o chumbo, cádmio, cromo e níquel não têm função biológica conhecida e comumente apresentam toxicidade aos organismos e seus efeitos sobre os elementos da biota normalmente são deletérios. Mesmo os elementos-traço que possuem função biológica, quando em concentrações muito elevadas, podem causar toxicidade aos organismos (OCHIAI, 1995).

Os efeitos tóxicos dos elementos químicos sobre a biota dependem de diversos fatores, como a forma físico-química do elemento (especiação) e as características físico-químicas da água. A especiação é uma característica muito importante para a biodisponibilidade e a toxicidade, uma vez que, diferentes espécies químicas de um mesmo elemento apresentam distintos efeitos biológicos (ADAMS, 1995).

As principais fontes de introdução desses elementos nos ecossistemas aquáticos são os processos físicos e químicos naturais (lixiviação de solos e rochas e atividade de vulcões) e as atividades antropogênicas (envolvendo a mineração e as indústrias de fundição, galvanoplásticas, automobilísticas, cerâmicas, de fertilizantes e de papel), as quais utilizam e descartam grande quantidade de elementos metálicos como cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco (MENDES, 2004).

O bário (Ba) em geral ocorre nas águas naturais em concentrações muito baixas, de 0,7 a 900 $\mu\text{g L}^{-1}$. Quantidades elevadas deste elemento são decorrentes de efluentes industriais e de resíduos de minerações. A ingestão do bário pode causar desde o aumento transitório da pressão sanguínea, por vasoconstrição, até sérios efeitos tóxicos sobre coração, vasos e nervos. Até hoje não se comprovou efeito cumulativo (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998).

O cádmio (Cd) é um elemento de elevado potencial tóxico, apresentando efeito cumulativo nos organismos aquáticos e não aquáticos, com meia-vida da ordem de 10 anos, podendo, portanto, integrar-se às cadeias alimentares. Em condições naturais, é encontrado nas águas em níveis-traço. A ocorrência de concentrações mais elevadas nas águas está relacionada ao contato com recipientes e canalizações que contenham este elemento, inclusive plásticos, ao uso de fertilizantes e ao lançamento de despejos industriais de galvanoplastia, de mineração e metalurgia do zinco, bem como de processos de combustão. Em pequenas doses, afeta os órgãos reprodutores de alguns animais. No homem, provoca irritação gastrointestinal com ocorrência de vômitos, ataca a medula óssea, causa hipertensão, doenças cardiovasculares, diminuição da massa óssea, retardo do crescimento em crianças e prejudica a capacidade excretora dos rins (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998).

O chumbo (Pb) é um metal tóxico ao homem e animais. Esse elemento ingerido é absorvido parcialmente pelo organismo. Entretanto, o contido no ar inspirado é absorvido rápida e completamente pelos pulmões, entrando na corrente sanguínea e distribuindo-se por todo o organismo. Em condições naturais, apenas traços são encontrados nas águas ($\leq 0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$). Maiores concentrações são decorrentes da contaminação por efluentes industriais ou de mineração. O chumbo apresenta poder cumulativo no organismo e quando assimilado pode desencadear uma série de perturbações, como danos ao sistema nervoso central (epilepsia, convulsões e paralisia), redução da capacidade intelectual em crianças, diminuição da resistência frente a infecções, anemia e intoxicação crônica ou saturnismo, que pode levar à morte (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998).

O cobre (Cu) ocorre em águas naturais em pequenas concentrações. Maiores teores são decorrentes de sua utilização como algicida, do lançamento de despejos industriais e do desgaste de canalizações de cobre (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998). Devido à frequente utilização do cobre, a liberação de fontes naturais para o ar e água é significativa, embora sua forma físico-química determine seu comportamento no meio ambiente e sua biodisponibilidade na biota (BONANCI, 2001). Em pequenas concentrações, o cobre participa de processos metabólicos e sua ausência pode causar anemia. Concentrações elevadas são danosas para os organismos aquáticos e também podem ocasionar problemas de fígado no homem - doença de Willson (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998).

O cromo (Cr) é um elemento raramente encontrado em águas naturais não poluídas. O cromo trivalente presente nas águas decorre principalmente do lançamento de despejos de curtumes. A presença do cromo hexavalente advém de despejos de indústrias que utilizam processos de cromagem de metais, galvanoplastias, indústria de corantes, explosivos,

cerâmica, vidro, papel, entre outros. Na forma trivalente o cromo apresenta menos toxicidade que na hexavalente. Este elemento pode ser prejudicial à saúde humana em concentrações maiores que 11 mg L^{-1} e, quando inspirado, pode ser carcinogênico (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998).

O níquel (Ni) é um elemento utilizado na produção de várias ligas, na fabricação de moedas, magnetos, baterias de acumulação, entre outros. Maiores concentrações desse elemento provêm de efluentes de fábricas de tintas e de processos de galvanoplastia. A ingestão de sais solúveis desse metal pode provocar alergia, náuseas, vômitos, diarreia e desordem respiratória (CPRM, 1999; SEILER; SIGEL, 1998). Nas águas naturais, as concentrações de níquel são geralmente menores do que $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (SILVA et al., 2003).

O zinco (Zn) é um dos elementos mais comuns do planeta, sendo encontrado no ar, solo, água e está naturalmente presente nos alimentos, sendo que sua distribuição no ambiente ocorre por processos naturais e por atividades antropogênicas (como a contaminação de águas por esgotos não tratados). Esse elemento é um metal essencial e tanto sua ausência quanto a exposição excessiva pode trazer efeitos nocivos aos seres humanos (BONANCI, 2001). Em análises de águas de fontes minerais de São Paulo, as concentrações de zinco variaram de 0,01 a $0,13 \text{ mg L}^{-1}$, o que se encontra dentro dos valores aceitáveis quando comparados com os valores máximos permissíveis citados na resolução 25/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde, que é de 5 mg L^{-1} (SILVA, 2003).

2.6 Aspectos microbiológicos da água

Alguns microrganismos relacionados à transmissão hídrica causam sérios agravos à saúde humana, por vezes letais, a exemplo da febre tifóide, cólera, hepatite. Outros são responsáveis por conseqüências mais amenas, como diarreias provocadas por rotavírus e *Cryptosporidium*, que podem se agravar quando acometidos por grupos vulneráveis, como idosos, crianças subnutridas ou indivíduos imunodeprimidos (OMS, 1995). Atenção crescente tem sido dada ao problema da transmissão de protozoários, especialmente *Giardia* e *Cryptosporidium*. Sua remoção da água é mais difícil que a dos demais organismos patogênicos e as técnicas de pesquisa em amostras de água ainda estão em fase de consolidação (BRASIL, 2006b).

Além disso, várias bactérias, usualmente de vida livre, porém reconhecidamente patogênicas oportunistas, também apresentam capacidade de colonizar ambientes aquáticos e sistemas de distribuição de água, constituindo risco à saúde de grupos populacionais

vulneráveis (pacientes hospitalizados, idosos, recém-nascidos, imunodeprimidos), tais como *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Aeromonas* (BRASIL, 2006b; OMS, 1995).

Uma relação de organismos patogênicos e suas respectivas características, organizadas de forma a facilitar a visualização da importância relativa de cada um na transmissão de doenças via abastecimento de água, está apresentada na Tabela 1. Em linhas gerais, pode-se dizer que os seguintes fatores favorecem a transmissão desses microrganismos: sobrevivência prolongada na água; possibilidade de reprodução na água, particularmente em sistemas de distribuição; resistência elevada à desinfecção; baixa dose infectante e; existência de múltiplos focos de contaminação como, por exemplo, reservatórios animais (BRASIL, 2006b). A identificação dos microrganismos patogênicos na água é, quase sempre, lenta, complexa e onerosa. Por tal razão, tradicionalmente recorre-se à identificação dos organismos indicadores de contaminação, na interpretação de que sua presença indicaria a introdução de matéria de origem fecal (humana ou animal) na água e, portanto, o risco potencial da presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2006b; OMS, 1995).

Tabela 1 - Organismos patogênicos de veiculação hídrica e transmissão fecal-oral e sua importância para o abastecimento

Agente patogênico	Importância para a saúde	Persistência na água ^a	Resistência ao cloro ^b	Dose infecciosa relativa ^c	Reservatório animal importante
Bactérias					
<i>Campylobacter jejuni, C. coli</i>	Considerável	Moderada	Baixa	Moderada	Sim
<i>Escherichia coli</i> patogênica	Considerável	Moderada	Baixa	Alta	Sim
<i>Salmonella typhi</i>	Considerável	Moderada	Baixa	Alta ^d	Não
Outras salmonelas	Considerável	Prolongada	Baixa	Alta	Sim
<i>Shigella spp.</i>	Considerável	Breve	Baixa	Moderada	Não
<i>Vibrio cholerae</i>	Considerável	Breve	Baixa	Alta	Não
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Considerável	Prolongada	Baixa	Alta (?)	Sim
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^e	Moderada	Podem multiplicar-se	Moderada	Alta (?)	Não
<i>Aeromonas spp.</i>	Moderada	Podem multiplicar-se	Baixa	Alta (?)	Não
Vírus					
Adenovírus	Considerável	?	Moderada	Baixa	Não
Enterovírus	Considerável	Prolongada	Moderada	Baixa	Não
Hepatite A	Considerável	?	Moderada	Baixa	Não
Hepatite transmitida por via entérica, hepatite E	Considerável	?	?	Baixa	Não
Vírus de Norwalk	Considerável	?	?	Baixa	Não
Rotavírus	Considerável	?	?	Moderada	Não (?)
Protozoários					
<i>Entamoeba histolytica</i>	Considerável	Moderada	Alta	Baixa	Não
<i>Giardia lamblia</i>	Considerável	Moderada	Alta	Baixa	Sim
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Considerável	Prolongada	Alta	Baixa	Sim

Fonte: OMS, 1995

? Não conhecido ou não confirmado.

a Período de detecção da fase infecciosa na água a 20 °C: breve, até uma semana; moderada, de uma semana a um mês; prolongada, mais de um mês.

b Resistência alta, quando a fase infecciosa encontra-se em estado livre na água tratada com doses e tempos de contato tradicionais; resistência moderada, o agente pode não acabar completamente destruído; resistência baixa, o agente acaba completamente destruído.

c A dose necessária para causar infecção em 50% dos voluntários adultos saudáveis; no caso de alguns vírus, basta uma unidade infecciosa.

d Segundo os resultados de experimentos com seres humanos voluntários.

e A principal via de infecção é o contato cutâneo, porém pacientes com câncer ou imunodepressão podem ser infectados por via oral.

Um organismo indicador considerado ideal deve preencher os seguintes requisitos: ser de origem exclusivamente fecal; apresentar maior resistência que os patogênicos aos efeitos adversos do meio ambiente e processos de tratamento; ser removido e/ou inativado por meio do tratamento da água, pelos mesmos mecanismos e na mesma proporção que os patogênicos; apresentar-se em maior número que os patogênicos; ser de fácil identificação; não se

reproduzir no meio ambiente. A rigor, não há um único organismo que satisfaça simultaneamente todas essas condições. Na ausência de um indicador ideal, deve-se trabalhar com o melhor indicador, ou seja, aquele que apresente a melhor associação com os riscos à saúde implícitos na contaminação da água. Os indicadores de utilização tradicional e quase universal são as bactérias do grupo dos coliformes (APHA, 2005; BRASIL, 2006b).

As bactérias do grupo coliformes são formadas por bactérias que incluem os gêneros: *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Citrobacter* e são consideradas os principais indicadores biológicos de contaminação de água de origem fecal (ALVES et al., 2002; AMARAL et al., 2003; APHA, 2005; BETTEGA et al., 2006; BRASIL, 2004; TORTORA et al., 2000). Essas bactérias estão presentes no intestino humano e de animais de sangue quente, sendo eliminadas nas fezes em números elevados (10^6 - 10^8 /g). Entretanto, este grupo inclui bactérias não exclusivamente de origem fecal, podendo ocorrer naturalmente no solo, água e plantas. Assim, na avaliação da qualidade de águas naturais os coliformes totais têm valor sanitário limitado, incluindo a avaliação de fontes individuais de abastecimento. O indicador mais preciso de contaminação fecal é a *E. coli*. Mesmo em mananciais bem protegidos não se pode desconsiderar a importância sanitária da detecção de *E. coli*, pois, no mínimo, indicaria a contaminação de origem animal silvestre, podendo tornar-se reservatório de agentes patogênicos ao ser humano (APHA, 2005; BRASIL, 2006b).

O grau de contaminação das águas é usualmente aferido com base na densidade de organismos indicadores, no pressuposto de que há uma relação semiquantitativa entre a mesma e a presença de microrganismos patogênicos (BRASIL, 2006b). O número de coliformes é expresso pelo Número Mais Provável (NMP), o qual representa a quantidade mais provável de coliformes existentes em 100 ml de água da amostra (APHA, 2005; RICHTER; NETO, 1991).

Algumas importantes definições e características relacionadas aos parâmetros microbiológicos da qualidade da água (APHA, 2005; BRASIL, 2004; CETESB, 2002): (1) *Coliformes Totais*: bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de se desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5$ °C em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo; (2) *E. coli*: bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não

hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas β -galactosidase e β -glicuronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos. Algumas cepas dessa espécie crescem a 37 °C, mas não a 44-45 °C, outras não fermentam a lactose (cerca de 10%) ou são indol-negativas (cerca de 3% a 5%).

A contagem de bactérias heterotróficas, genericamente definidas como microrganismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes, fornece, de forma ampla, informações sobre a qualidade bacteriológica da água. Inclui a detecção, inespecífica, de bactérias ou esporos de bactérias de origem fecal, componentes da flora natural da água ou resultantes da formação de biofilmes no sistema de canalização, das quais algumas são patogênicas oportunistas, como discutido anteriormente. Adicionalmente, a contagem serve como controle de qualidade das análises de coliformes, já que elevadas densidades de bactérias podem inibir o crescimento dos coliformes em meios de cultura à base de lactose (APHA, 2005; BRASIL, 2006b). Como definição, a contagem de bactérias heterotróficas é a determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriado, sob condições pré-estabelecidas de incubação: 35,0 \pm 0,5 °C por 48 horas (APHA, 2005; BRASIL, 2004).

2.7 Toxicologia aquática e testes de ecotoxicidade

A Toxicologia Aquática é definida como o estudo dos efeitos adversos de agentes químicos e de outros produtos de natureza alheia ao ambiente sobre os organismos aquáticos. Os testes de ecotoxicidade devem ser considerados como uma análise indispensável no controle da poluição hídrica, pois se fundamentam na utilização dos organismos vivos que são diretamente afetados pelos desequilíbrios que eventualmente ocorrem nos ecossistemas aquáticos onde vivem, uma vez que as análises químicas apenas identificam e quantificam as substâncias presentes na água ou sedimento, mas não detectam os efeitos sobre a biota (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Um monitoramento de todas as substâncias tóxicas presentes em um corpo d'água é praticamente impossível em termos de tempo, equipamentos, pessoas capacitadas e custos. O monitoramento de algumas substâncias pode ser indicativo que muitas outras podem estar presentes, assim como, no mesmo conceito são realizadas as análises de coliformes

termotolerantes para o conhecimento de quanto o corpo d'água está contaminado com esgoto doméstico e o risco de ocorrência de outros organismos patogênicos que ocorrem associados a esses (BLAISE; FÉRARD, 2005).

Com o exposto anteriormente, a importância dos testes de ecotoxicidade na avaliação da qualidade das águas fica bastante evidente. Tais testes são de baixo custo e avaliam com precisão a presença de substâncias tóxicas ou organismos predadores, como por exemplo, *E. coli* para a *Hydra* (MESSIAS, 2008).

Os efeitos tóxicos de determinada amostra-teste são avaliados por meio de variáveis biológicas como a letalidade, imobilidade, alterações no desenvolvimento, crescimento, reprodução, metabolismo, fisiologia e comportamento dos organismos-teste. Os testes de ecotoxicidade fornecem informações sobre a letalidade relativa de um material, sendo delineado para determinar a concentração suficiente para causar efeito adverso a 50% dos organismos-teste (CL₅₀). Essa concentração é estimada pela exposição a uma série de concentrações de uma solução e as respostas dos organismos são observadas (MELLETTI, 1997). Os testes de ecotoxicidade aguda medem os efeitos dos agentes tóxicos sobre as espécies durante uma curta fase da vida (24 a 96 horas de exposição), onde são utilizadas várias concentrações e um controle (com sobrevivência mínima de 90%, para ser aceitável). As respostas obtidas são os “*end points*”, valores resultantes de medidas específicas realizadas durante ou após a conclusão do teste de ecotoxicidade (DELLAMATRICE, 2005).

Os organismos utilizados para avaliação da toxicidade podem ser de diferentes níveis tróficos e/ou funcionais, de preferência os organismos devem pertencer aos níveis tróficos padronizados mundialmente. Como por exemplo, os produtores primários representados por *Lactuca sativa* e *Pseudokirchneriella subcapitata*; os consumidores primários, por *Daphnia magna* e os consumidores secundários, por *Hydra attenuata*. A importância no uso de mais de uma espécie está fundamentada na informação de que nenhuma espécie é sensível a todas as substâncias tóxicas e sua sensibilidade varia de acordo com o agente tóxico e com as condições ambientais (DUTKA, 1997).

H. attenuata são celenterados de água doce, pertencentes ao filo Cnidaria e a classe Hydrozoa, encontrados em todos os corpos de águas continentais, exceto na Antártida e em profundidades com ausência de oxigênio. Os indivíduos da classe Hydrozoa são organismos sésseis, que se locomovem contraindo ou curvando a haste corporal e os tentáculos, reproduzem-se por brotamento e alimentam-se de microcrustáceos. *H. attenuata* possuem simetria radial, o corpo principal é um cilindro alongado de 2 a 25 mm de comprimento,

possui um círculo de 5 ou 6 tentáculos, tendo uma boca no centro da coroa de tentáculos (MASSARO, 2006).

H. attenuata são organismos atrativos para estudos ecotoxicológicos por apresentarem mudanças morfológicas em condições de progressiva intoxicação; sua estrutura corporal intensifica seu potencial de detectar toxicidade, ocorrem em vários ambientes de água doce e são de fácil cultivo e manutenção em laboratório. Além disso, os testes com estes organismos são de simples realização e baixo custo (TROTIER et al., 1997). Arkhipchuk et al. (2006) mostraram que *H. attenuata* são organismos adequados para avaliação da toxicidade em águas destinadas para consumo humano.

Vários pesquisadores têm utilizado diferentes espécies de *Hydra* em testes de ecotoxicidade para estudar os efeitos de poluentes aquáticos, incluindo efluentes industriais (BLAISE; KUSUI, 1997; PARDOS et al., 1999), metais pesados (HOLDWAY et al., 2001; KARNTANUT; PASCOE, 2002; MESSIAS, 2008), compostos estrogênicos e outros hormônios (PACHURA-BOUCHET et al., 2006; PASCOE et al., 2002) e produtos farmacêuticos (BLAISE et al., 2007; PASCOE et al., 2003; QUINN et al., 2008; QUINN et al., 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos do presente estudo foram realizados nos Laboratórios de Ecologia Aplicada e de Química Analítica, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), e nos Laboratórios Físico-Químico, de Bacteriologia e de Bioensaios do Setor de Controle de Qualidade, do SEMAE – Piracicaba (Serviço Municipal de Água e Esgoto de Piracicaba).

3.1 Caracterização da área de estudo e pluviometria

As nascentes localizam-se no município de Piracicaba-SP e foram escolhidas para o presente estudo pelo histórico de contaminação microbiológico e pela procura das mesmas pela população. O SEMAE possui 17 nascentes cadastradas, sendo que 12 delas são ativas e monitoradas mensalmente, através da análise qualitativa (presença/ausência) de coliformes totais e *E. coli* pela técnica dos substratos cromogênicos (*Colilert*®).

Os dados de um período de 46 meses (Janeiro/2006 a Outubro/2009), obtidos dos registros do SEMAE, mostram a frequência de contaminação para cada nascente, ou seja, a razão entre o número de resultados positivos (para coliformes totais e *E. coli*, separadamente) e o número total de análises, multiplicado por 100 (Figura 2). Esses dados foram considerados para a seleção das nascentes que seriam analisadas no estudo.

Dentre as 12 nascentes monitoradas no município, foram selecionadas oito para análise (Figura 3). A Tabela 2 indica a localização de cada uma delas e suas posições georreferenciadas, sendo que a numeração de cada nascente está de acordo com a numeração cadastrada pelo SEMAE. A Figura 4 mostra a localização geográfica de cada uma das nascentes em Piracicaba-SP. Os dados de pluviometria foram obtidos a partir do pluviômetro do SEMAE (localizado na Rua Luiz de Queiroz, 306 - Centro), os quais se referem à precipitação de 5 dias que antecedem as datas das coletas das amostras de água (Tabela 3).

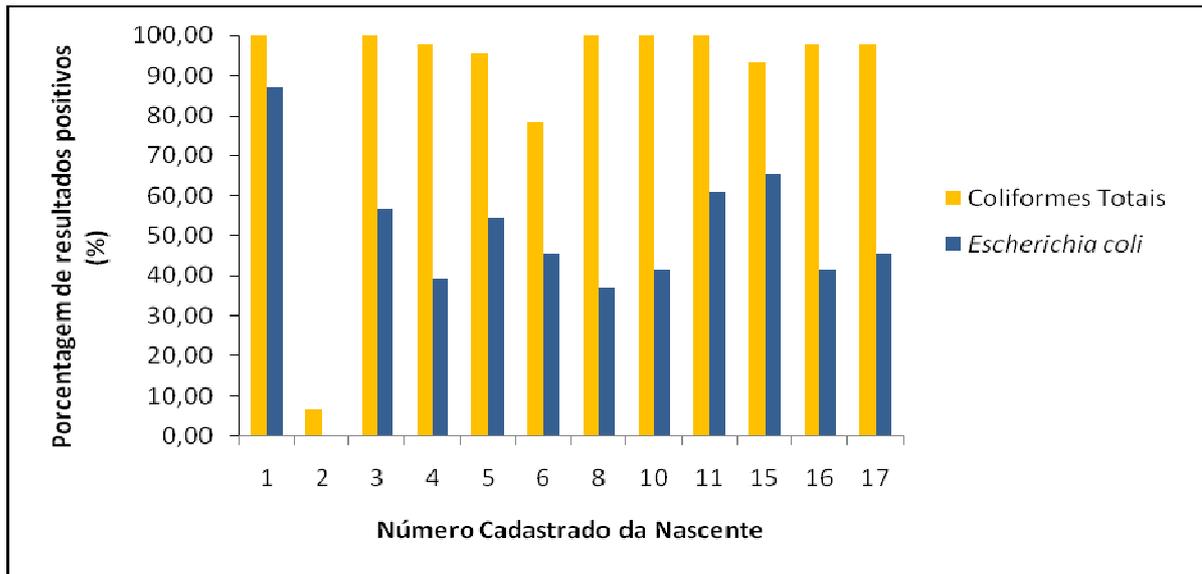


Figura 2 - Frequência de contaminação por coliformes totais e *E. coli* das 12 nascentes monitoradas pelo SEMAE (Piracicaba-SP) em 46 meses (Janeiro/2006 a Outubro/2009)

Tabela 2 - Localização das nascentes e posição georreferenciada (Piracicaba-SP)

Nascente	Localização (Bairro)	Latitude (S)	Longitude (O)
1	Bairro Alto	22° 44' 0,5"	47° 38' 24,7"
2	Paulista	22° 44' 14,2"	47° 39' 0,01"
3	Nhô Quim	22° 42' 5,6"	47° 39' 33,7"
4	Nhô Quim	22° 42' 0,7"	47° 39' 40,4"
5	Cidade Jardim	22° 43' 1,2"	47° 38' 39,3"
10	Castelinho	22° 43' 37,7"	47° 40' 1,2"
11	Jardim Brasília	22° 43' 25,9"	47° 37' 8,7"
17	Santa Olímpia	22° 36' 52"	47° 44' 40,8"

Tabela 3 - Pluviosidade dos 5 dias antecedentes ao das coletas (mm) em Piracicaba-SP

Data da Coleta	5 dias	4 dias	3 dias	2 dias	1 dia	Total Acumulado
25/01/10	30,3	5,7	4,3	23,8	0,0	64,1
12/04/10	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3
26/07/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/10/10	0,8	0,6	0,9	1,5	1,6	5,4



Figura 3 - Nascentes (bicas) selecionadas para o estudo (Piracicaba/SP)

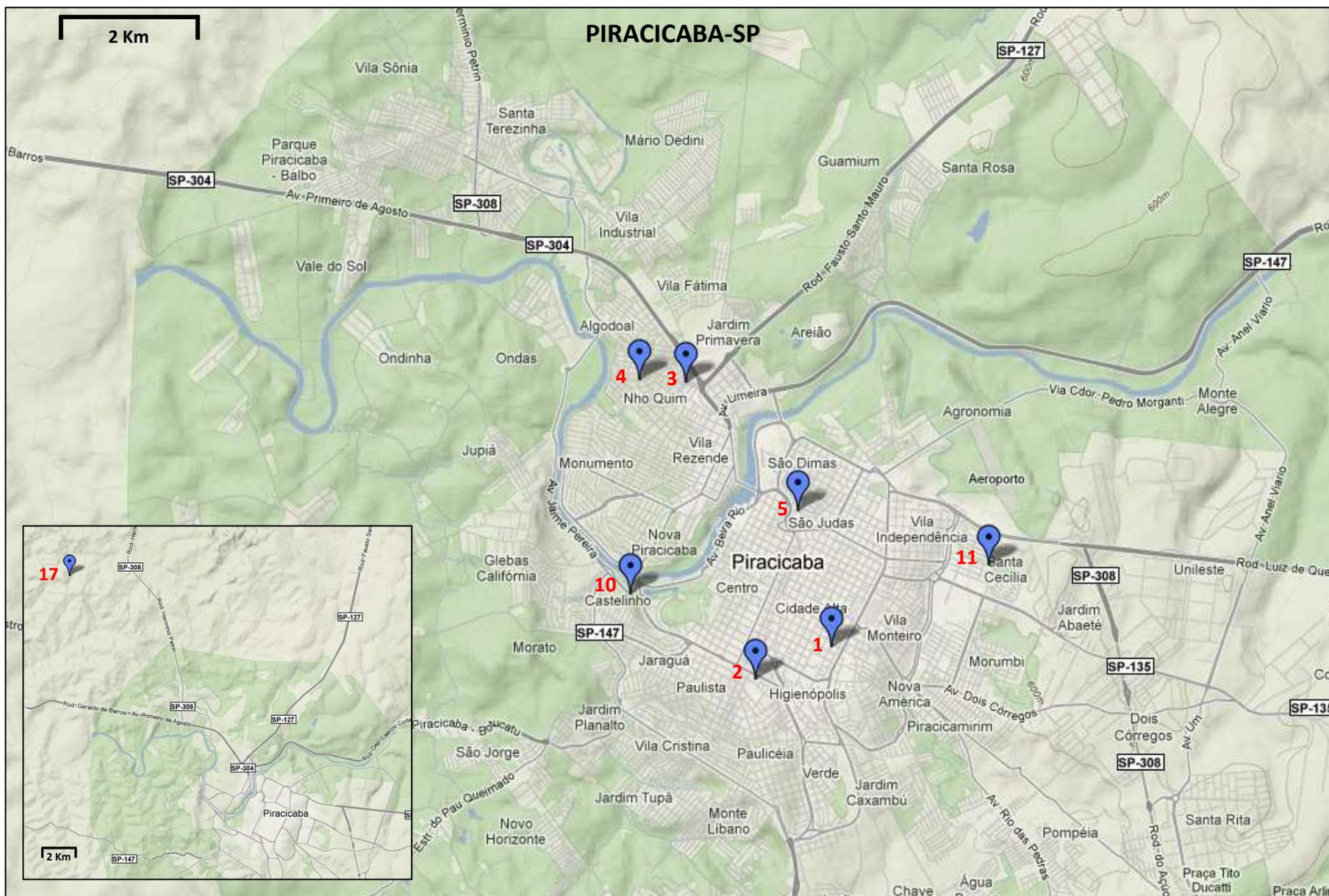


Figura 4 - Localização geográfica das nascentes selecionadas para o presente estudo (Piracicaba-SP)

3.2 Procedimentos de coleta das amostras

As amostras para análises microbiológicas foram coletadas em frascos plásticos de polipropileno de alta densidade de 250 mL, esterilizados, contendo duas gotas de solução de tiosulfato de sódio (para neutralização de um possível resíduo de cloro). Os frascos foram conservados em geladeira (entre 1 e 5 °C) até o momento das análises (não mais do que 24 horas após a coleta).

Para os testes de ecotoxicidade com *H. attenuata*, as amostras foram coletadas em frascos de vidro apropriados de 1 L, sem nenhum tratamento especial para os mesmos. Os recipientes também foram conservados em geladeira (entre 1 e 5 °C) até o momento das análises, no máximo 48 horas após a coleta.

Para as análises físicas e químicas, foram utilizados frascos plásticos de polipropileno de 500 mL. Nas análises de amônia e nitrato foram utilizados frascos de polipropileno de 500 mL contendo 5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), na concentração 1+3 (H₂SO₄+H₂O).

3.3 Testes físicos e químicos

As metodologias adotadas em cada análise são as recomendadas no *Standard methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 2005). Os parâmetros físicos e químicos analisados trimestralmente (janeiro, abril, julho e outubro de 2010) neste estudo foram: condutividade, pH, cor, turbidez, oxigênio consumido, dureza, ferro, alumínio, manganês, amônia, nitrato e sólidos dissolvidos totais. Foi realizada uma análise adicional de elementos-traço (coleta em setembro de 2010) por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado individualmente (ICP-AES).

3.3.1 Condutividade elétrica

As medidas de condutividade foram realizadas por um condutivímetro, modelo W12D, BEL Engin. O eletrodo foi colocado nas amostras de água, medindo diretamente a condutividade específica. O aparelho foi calibrado previamente com solução padrão de condutividade. Os resultados são expressos em $\mu\text{S cm}^{-1}$.

3.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi medido pelo método potenciométrico (considerado padrão), que é praticamente isento de interferentes. O eletrodo foi colocado nas amostras de água, medindo diretamente o pH. O equipamento foi calibrado previamente com soluções-tampão padrão de pH apropriadas. O modelo do aparelho é DM-22 - Digimed.

3.3.3 Cor

As medidas de cor das amostras de água foram realizadas em espectrofotômetro (modelo DR 2500 - HACH), no comprimento de onda 470 nanômetros. Os resultados são expressos pela Unidade Hazen (mg L^{-1} Platina-Cobalto).

3.3.4 Turbidez

A turbidez foi avaliada por meio do equipamento turbidímetro HACH, modelo 2100P. Essa medida é baseada no método nefelométrico, que é secundário e indireto. Realizou-se a leitura de intensidade da luz dispersa pela amostra em ângulo de 90° graus com a direção da luz incidente, em relação à intensidade da luz dispersa por uma suspensão-padrão (formazina) nas mesmas condições. Os resultados são expressos pela Unidade de Turbidez (uT).

3.3.5 Oxigênio consumido

Para a determinação do oxigênio consumido (OC), foi realizado o seguinte procedimento: 100 mL de amostra de água foram colocados em frasco Erlenmeyer (de 250 mL) e, em seguida, adicionados 5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4), na concentração 1+3 ($\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}$) e 5 mL de permanganato de potássio (0,0125 N); então, a mistura foi aquecida a 80 °C por 40 minutos, seguindo-se a adição de 5 mL de oxalato de sódio (0,0125 N) e um novo aquecimento por 5 minutos. O excesso de oxalato foi titulado com a solução de permanganato até o ponto em que a solução atinge a coloração rosa claro. O volume de permanganato titulado corresponde ao resultado final, o qual é expresso em mg L^{-1} de O_2 ,

3.3.6 Dureza

Para esta análise foi adicionado 50 mL da amostra de água em frasco Erlenmeyer (de 250 mL), seguido de 1 mL (20 gotas) de solução tampão para dureza (136 g de NH_4Cl dissolvidos em 1150 mL de NH_4OH , pH $10,0 \pm 0,1$) e 0,05 g do indicador em pó Eriocromo Negro T. Em seguida, a mistura foi titulada lentamente com solução de EDTA 0,01 N, com agitação contínua até atingir a coloração azul claro. O cálculo da dureza foi realizado pela seguinte fórmula: $20 \times V_{\text{EDTA}} \times F_C$, onde V_{EDTA} é o volume de EDTA gasto na titulação e F_C é o fator de correção para o EDTA ($F_C = 25/V_{\text{EDTA}}$). Os resultados são expressos em mg L^{-1} de CaCO_3 .

3.3.7 Ferro

Para a análise da concentração de ferro, foi adicionado 50 mL da amostra em frasco Erlenmeyer (de 250 mL), seguido de 5 mL de ácido clorídrico (HCl), na concentração 1+3 ($\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}$) e 1 mL de solução de hidroxilamina (100 g L^{-1}). O frasco foi levado à chapa aquecedora para a ebulição da mistura, até atingir um volume de aproximadamente 25 mL. Então, esperou-se esfriar a mistura em temperatura ambiente, seguido da adição de 10 mL de solução tampão de acetato de amônio (200 g L^{-1}) e 4 mL de solução de fenantrolina (1 g L^{-1}), completando o volume para 50 mL com água destilada. Após 15 minutos de esfriamento, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (modelo DR 2500 - HACH), em programa específico para a concentração de ferro total. Para a leitura do branco, foi realizado o mesmo procedimento das amostras de água, utilizando-se água destilada inicialmente. Os resultados são expressos em mg L^{-1} .

3.3.8 Alumínio

Para a análise da concentração de alumínio, foi adicionado 25 mL da amostra em proveta de 50 mL, seguido de 5 mL de ácido sulfúrico (0,02 N), 1 pitada (0,05 g) de ácido ascórbico em pó, 10 mL de solução tampão de acetato de sódio (136 g L^{-1}) e 5 mL de eriocromocianina, completando o volume para 50 mL com água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (modelo DR 2500 - HACH), em programa específico para o teor de alumínio. Para a leitura do branco, foi realizado o mesmo procedimento das amostras de água, utilizando-se inicialmente água destilada e 2 mL EDTA (0,02 N). Os resultados são expressos em mg L^{-1} .

3.3.9 Manganês

Para a análise da concentração de manganês, foi adicionado 50 mL da amostra em frasco Erlenmeyer (de 125 mL), seguido de 30 mg de ácido ascórbico em pó, 2 mL solução tampão (cianeto alcalino + cloreto de amônio) e 2 mL de solução indicadora Pan (piridilazo naftol). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (modelo DR 2500 - HACH), em programa específico para o teor de manganês (comprimento de onda de 560 nanômetros). Para a leitura do branco, foi realizado o mesmo procedimento das amostras de água, utilizando-se água destilada inicialmente. Os resultados são expressos em mg L^{-1} .

3.3.10 Amônia e nitrato

Para a análise de amônia, foram colocados 250 mL da amostra de água (preservada com ácido sulfúrico) em um frasco de vidro apropriado. Foi acrescentado 5 mL de NaOH 50%, verificando-se, em seguida, a mudança do pH da amostra com 3 gotas de fenolftaleína (mudança para cor rosa, indicando pH básico). Colocou-se o frasco no aparelho destilador de nitrogênio (modelo MA 036 - Marconi) e para receber o destilado (efluente), usou-se frasco Erlenmeyer de 250 mL, contendo 5 mL de ácido bórico. Destilou-se até o volume de 200 mL; o volume foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL, o qual foi completado com água destilada. Em seguida, retirou-se 50 mL do destilado e acrescentou-se 5 mL de metassilicato de sódio (60 g L^{-1}), 1 mL de NaOH (1N) e 2 mL de reagente Nessler. A leitura foi feita em espectrofotômetro (modelo DR 2500 - HACH), em comprimento de onda de 525 nanômetros (programado com uma curva padrão pré-estabelecida). Essa metodologia foi adaptada de uma Norma Técnica da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 1978a).

Para a análise de nitrato, após o resfriamento da sobra do destilado de NH_3 , foi acrescentado 0,1g de Liga de Devarda (reagente que causa a redução do NO_3^- a NH_3) e efetuou-se novo processo de destilação (procedimento idêntico à análise de amônia, descrito no parágrafo anterior). Essa metodologia foi adaptada de uma Norma Técnica da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 1978b). Ambos os resultados, para amônia e nitrato, são expressos em mg L^{-1} .

3.3.11 Sólidos dissolvidos totais

Para a análise de sólidos dissolvidos totais foi realizado o seguinte procedimento: para cada amostra analisada, uma cápsula de porcelana (limpa e seca) foi pesada com precisão em balança analítica (massa: **m1**, em gramas). Cerca de 300 mL de amostra de água foi homogeneizada e filtrada em bomba de vácuo, utilizando-se filtro de fibra de vidro, gramatura de 52g cm⁻², espessura de 0,25 mm, com retenção de partículas de 1,6 µm e diâmetro de 47 mm. O efluente filtrado (contendo somente partículas dissolvidas) foi coletado em proveta de 100 mL e esse volume foi transferido para a cápsula de porcelana. A cápsula foi levada para estufa (na temperatura de 110 °C) até atingir peso constante (aproximadamente 18 horas). Em seguida, ela foi esfriada em dessecador e pesada novamente (massa: **m2**, em gramas). O resultado dos sólidos dissolvidos totais foi calculado pela fórmula **(m2 - m1) x 10000**, sendo expresso em mg L⁻¹.

3.3.12 Elementos-traço: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco

A quantificação dos elementos-traço foi realizada por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado individualmente (ICP-AES), marca Perkin-Elmer, modelo Optima 3000 DV, no laboratório de Química Analítica do CENA/USP. Foram realizadas leituras de padrões (0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 ppm) de cada elemento analisado, para a calibração dos resultados por curvas de regressão.

3.4 Testes microbiológicos

Os métodos realizados para cada análise estão padronizados no *Standard methods for the examination of water and wastewater* (APHA, 2005). Os parâmetros microbiológicos estudados foram: análise qualitativa mensal de coliformes totais e *E. coli* (presença/ausência); análise quantitativa trimestral de coliformes totais e *E. coli* (tubos múltiplos) e; contagem padrão de bactérias heterotróficas (análises mensais).

3.4.1 Análise qualitativa de coliformes totais e *E. coli* (presença/ausência)

As análises de coliformes totais e *E. coli* foram realizadas pelo método dos substratos cromogênicos (*Colilert*®). Esse método se baseia na utilização de dois substratos ativos, o σ -nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e o 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronídeo (MUG), que são combinados para detecção de coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Os coliformes produzem a enzima β -galactosidase, que hidrolisa o ONPG e libera o σ -nitrofenol, que confere uma coloração amarela à água. A *E. coli* produz a enzima β -glucuronidase, que hidrolisa o MUG, formando um composto fluorescente sob luz ultravioleta de 365 nm, o 4-metilumbeliferona (TORTOTA et al., 2000).

Essa metodologia pode ser aplicada na análise qualitativa desses microrganismos (presença/ausência). Nesse experimento, foram colocadas 100 mL das amostras de água em frascos plásticos transparentes (esterilizados em luz UV por 30 minutos). Em seguida, foi adicionado o substrato na forma de pó em cada frasco, feita a homogeneização dos mesmos e sua incubação em estufa a 36 °C por 24 horas. Após 24 horas de incubação, a coloração amarela indicou a presença de coliformes totais na água e a fluorescência azul sob luz UV (365 nm) no escuro a presença de *E. coli* (Figura 5).



Figura 5 - Resultado positivo para coliformes totais (esquerda) e *E. coli* (direita)

A Portaria 518/MS (2004) determina que toda água para consumo humano apresente ausência de coliformes totais e de coliformes termotolerantes ou *E. coli* por 100 mL de água, sendo a detecção de *E. coli* preferencialmente adotada. Entretanto, de acordo com a referida Portaria, em amostras individuais procedentes de poços, fontes, nascentes e outras formas de abastecimento sem distribuição canalizada, toleram-se a presença de coliformes totais, na

ausência de *E. coli* e/ou, coliformes termotolerantes. Nesta situação deve ser investigada a origem da ocorrência, tomadas providências imediatas de caráter corretivo e preventivo e realizada nova análise de coliformes (BRASIL, 2004).

3.4.2 Análise quantitativa de coliformes totais e *E. coli* (tubos múltiplos)

As análises quantitativas de coliformes totais e *E. coli* foram feitas pelo método dos substratos cromogênicos (*Colilert*®), em séries de diluições (tubos múltiplos) pela estimativa do número mais provável (NMP) por 100 mL de água da amostra.

Para cada amostra das nascentes foram utilizados cinco tubos para as diluições de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL, totalizando 15 tubos (Figura 6). Os tubos foram incubados em estufa a 36 °C por 24 horas. A combinação de resultados positivos e negativos tanto para coliformes totais (coloração amarela) como para *E. coli* (fluorescência azul) foi utilizada para a estimativa do NMP/100mL com os limites de confiança de 95% para cada valor de NMP determinado (Anexo I).

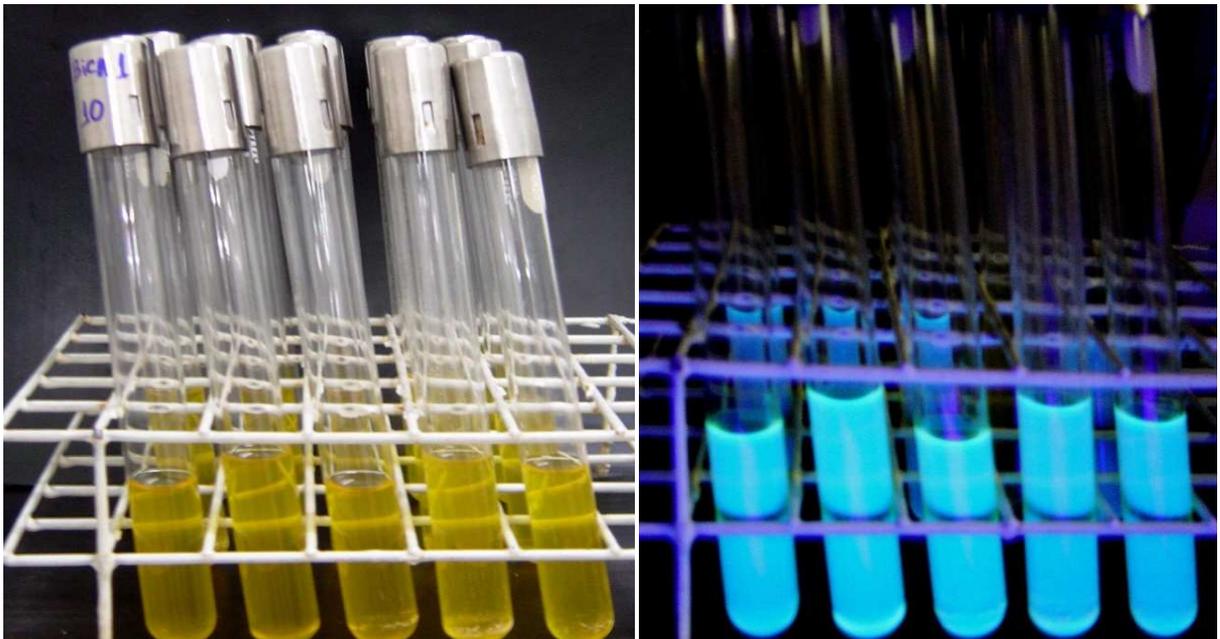


Figura 6 - Séries de diluições das amostras em tubos contendo meio de cultivo com os substratos cromogênicos. Após 24 horas de incubação, a coloração amarela indica a presença de coliformes totais e a fluorescência azul a de *E. coli*. A combinação de resultados positivos e negativos é utilizada para o cálculo do Número Mais Provável (NMP) desses microrganismos por 100 mL de água

3.4.3 Contagem padrão de bactérias heterotróficas

Para essa técnica, foram preparadas placas de Petri esterilizadas, em duplicata, e para cada placa, com uma pipeta estéril de 2 mL e obedecendo aos cuidados de assepsia, foram transferidos volumes de 1 mL para cada placa. Após a inoculação de todos os volumes, foram acrescentados de 10 a 13 mL do meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*: agar, triptona, glicose e extrato de levedura), previamente fundido e mantido em banho-maria ou estufa para estabilização da temperatura a 45 ± 1 °C, com o cuidado de flambar a boca do tubo antes de verter o meio de cultura na placa. O inóculo foi homogeneizado com o meio de cultura contido na placa, com movimentos circulares em forma de oito, aproximadamente 6 a 10 vezes consecutivas; os movimentos foram moderados para não projetarem o meio de cultura com o inóculo contra as paredes ou a tampa da placa. Depois, o meio de cultura permaneceu solidificando por cinco minutos. As placas foram incubadas a $35 \pm 0,5$ °C durante 48 ± 3 horas, em posição invertida, para evitar a condensação da água sobre a superfície do meio de cultura. Após o período de incubação, foram efetuadas as contagens nas placas em duplicata e calculadas as médias aritméticas das contagens para determinação de UFC/mL (Figura 7). A Portaria 518/MS (2004) estabelece o limite de 500 unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de água para consumo humano.

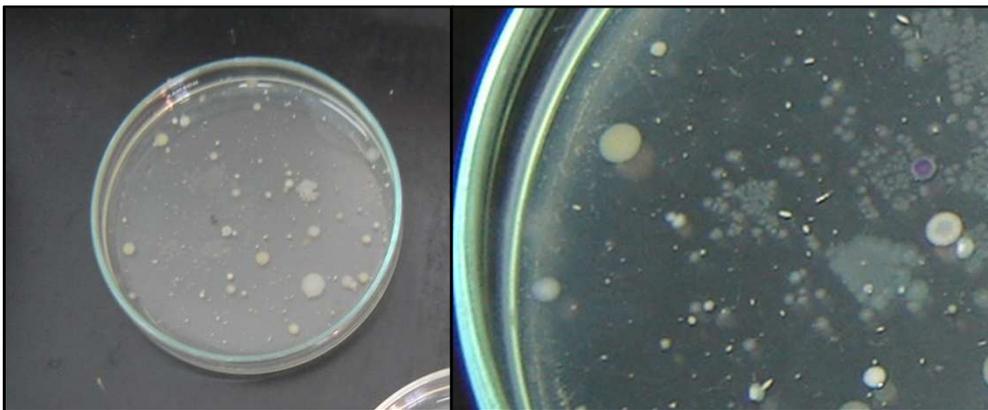


Figura 7 - Colônias de bactérias heterotróficas crescidas em meio de cultivo PCA

3.5 Teste de ecotoxicidade com *H. attenuata*

Em laboratório, *H. attenuata* vive em meio de cultivo apropriado. O cultivo foi feito em recipientes circulares de vidro de 20 cm de diâmetro, do tipo cristalizador, contendo 300 mL de meio de cultivo, em temperatura de 20 ± 2 °C, intensidade luminosa em torno de 800 lux e um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. O meio de cultivo foi preparado com os seguintes reagentes: 2,94 g de cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 2,20 g de N-tris (hidroximetil) metil 1-2 aminoetanosulfônico (Buffer TES) e 0,08 g de EDTA, dissolvidos em 20 L de água destilada/deionizada, esterilizada previamente em luz UV por 30 minutos (pH ajustado com NaOH 20% a $7,0 \pm 0,1$). O diluente utilizado nos testes ecotoxicológicos (chamado de meio de hidra sem EDTA) foi preparado com 0,294 g de cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e 0,220 g de N-tris (hidroximetil) metil 1-2 aminoetanosulfônico (Buffer TES), dissolvidos em 2 L de água destilada/deionizada, esterilizada previamente em luz UV por 30 minutos (pH ajustado com NaOH 20% a $7,0 \pm 0,1$).

As hidras foram mantidas em laboratório sendo alimentadas três vezes por semana (terça, quinta e sexta) com *Artemia salina* (camarões brine), um microcrustáceo de água salgada. Os cistos de *A. salina* foram colocados para eclodir em 7,5 g de NaCl dissolvidos em 500 mL de água destilada e, mantido sob aeração e luminosidade por 24 h. As artêmias eclodidas foram retiradas, lavadas com o meio de cultivo das hidras e administradas como alimento para *H. attenuata*. Uma e quatro horas após a alimentação foram realizadas trocas do meio de cultivo nos frascos, para remoção do excesso de artêmias e das excretas das hidras (exoesqueletos regurgitados).

Os organismos foram expostos à amostra de água das nascentes por um período de 96 horas; durante esse período, foram feitas observações das características morfológicas dos organismos, a cada 24 horas (Figura 8). Neste ensaio, podem ser observados desde efeitos crônicos (modificações morfológicas subletais) até efeitos agudos (morte), dependendo do grau de toxicidade da amostra. Os resultados foram expressos como: *Amostra Não Tóxica* (organismos normais), *Toxicidade Crônica* (organismos apresentando modificações morfológicas subletais) e/ou *Toxicidade Aguda* (organismos apresentando efeitos letais - morte dos organismos) (BLAISE; KUSUI, 1997).

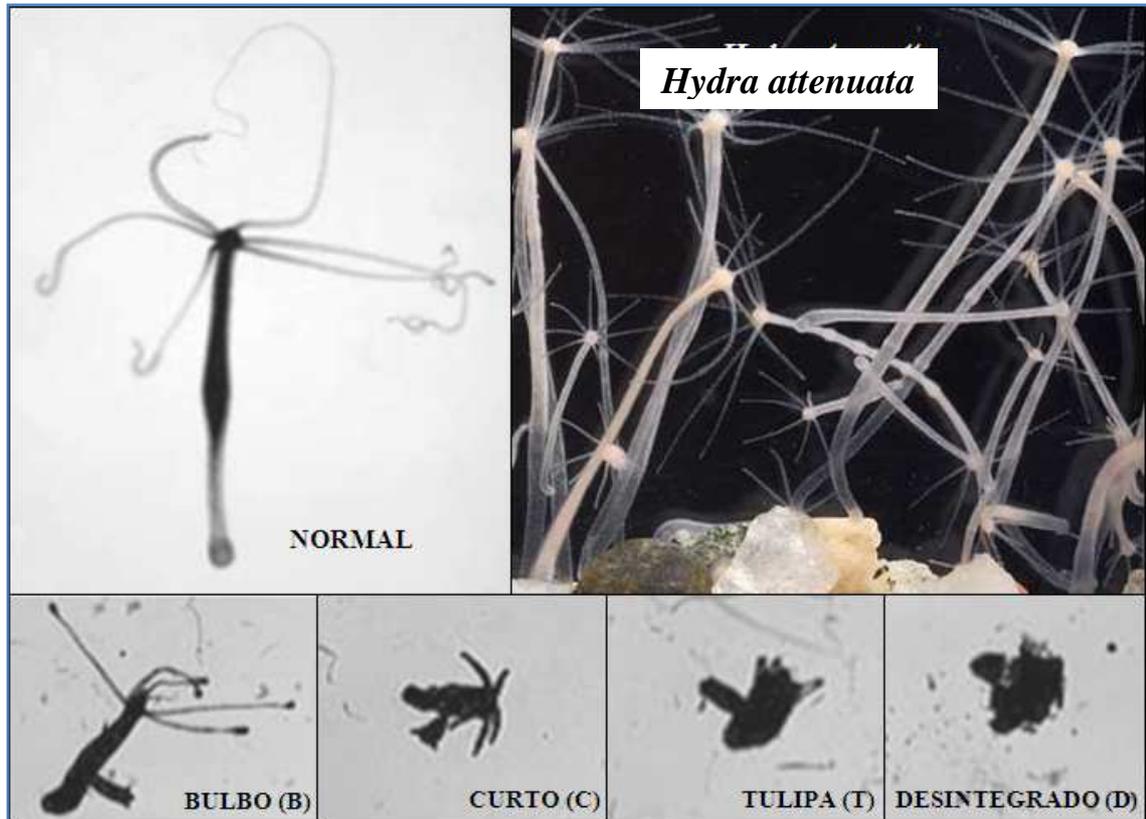


Figura 8 - Mudanças morfológicas progressivas em *Hydra attenuata* exposta à agente tóxico: efeitos subletais (bulbos nos tentáculos e tentáculos encurtados) e letais (tulipa e desintegrado)

Para esse teste foram realizadas diluições das amostras diretamente nas placas de teste (placas de cultivo celular de 12 poços). Empregou-se uma série de 4 concentrações para cada amostra (100%, 75%, 50% e 25%), de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4 - Preparo das diluições das amostras para o teste com *H. attenuata*

Concentração da amostra	Volume de amostra pipetado	Volume de diluente*	Volume final
100%	4,0 mL	0,0 mL	4,0 mL
75 %	3,0 mL	1,0 mL	4,0 mL
50%	2,0 mL	2,0 mL	4,0 mL
25%	1,0 mL	3,0 mL	4,0 mL

*Diluyente: meio de cultivo de hidra sem EDTA

Cada teste de toxicidade (com amostras de água das nascentes) foi realizado em placas de cultivo celular de 12 poços. O teste é composto por 3 réplicas para cada diluição das amostras. Para esse procedimento, preparou-se uma placa de Petri de transferência (placas de 35 x 10 mm) para cada diluição da amostra. Essa placa de Petri de transferência foi utilizada como intermediária para transferência das hidras (entre o meio de cultivo e a amostra), a fim

de diminuir o efeito da diluição da amostra pelo meio de cultivo (Figura 9). Foram pipetados 4,0 mL de cada amostra/diluição em cada poço da placa e 8 mL de amostra/diluição em cada placa de Petri de transferência. Foram selecionados para o teste organismos de aspecto saudável e sem broto, que estavam em jejum por, no mínimo, 24 horas. Com a ajuda de uma pipeta plástica descartável, foram transferidas de 10 a 12 hidras em cada uma das placas de Petri de transferência. Posteriormente, foram distribuídas 3 hidras da placa de Petri de transferência para cada poço da placa de cultivo de igual diluição. Após a distribuição dos organismos, cada placa de cultivo foi analisada ao microscópio estereoscópico, verificando se cada poço apresentava 3 hidras e se todas tinham aspecto saudável no momento de início do teste. Além disso, cada placa foi coberta com parafilme, evitando-se a evaporação das amostras. Diariamente foi realizada a observação dos organismos com o auxílio do microscópio estereoscópico. As mudanças morfológicas se classificam tomando como base a Figura 8. Após 96 horas, foi feita a última leitura e finalizado o teste. Deve-se somar o número total de hidras no mesmo estado morfológico (normal, tentáculos em bulbo, curtos, tulipa e desintegrado) para cada amostra/diluição. Posteriormente, se formaram três grupos: organismos normais, organismos com efeito subletal (bulbo e curto) e organismos com efeito letal (tulipa e desintegrado).

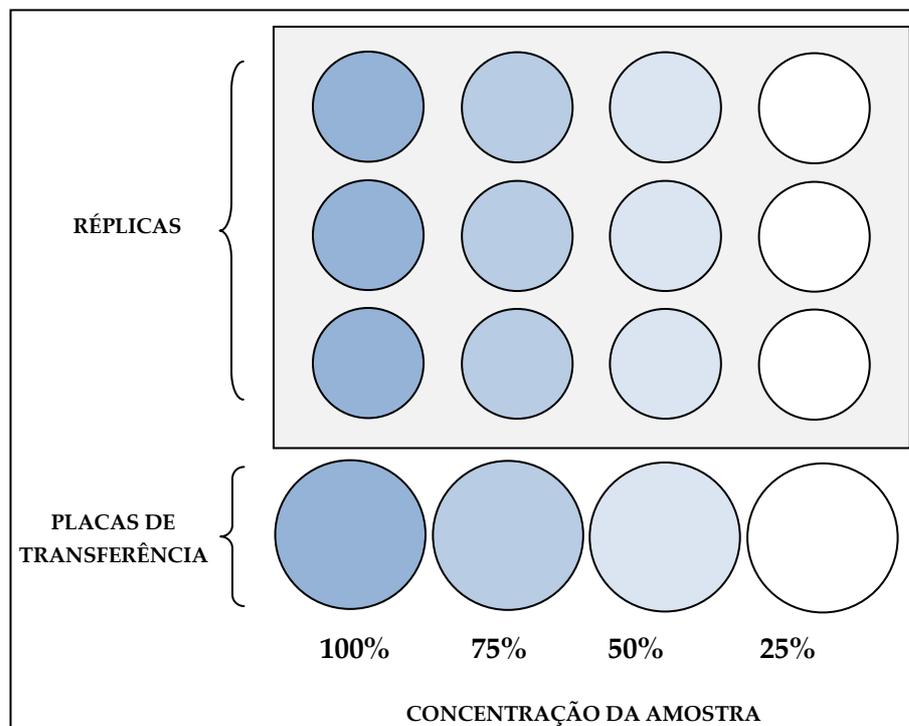


Figura 9 - Disposição experimental da placa para o teste de ecotoxicidade com hidras

A estimativa da toxicidade foi determinada pelo método *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977), calculando valores de CE_{50} e CL_{50} . Os cálculos do CE_{50} foram baseados no aparecimento de quaisquer danos morfológicos incluindo os efeitos subletais, enquanto que os cálculos de CL_{50} baseados somente nos efeitos letais. Posteriormente, segundo Arkhipchuk et al. (2006), as amostras foram classificadas baseado no CE_{50} em: indícios de toxicidade (81-100%), moderadamente tóxica (61-80%), tóxica (41-60%), altamente tóxica (21-40%) e extremamente tóxica (0-20%). Quando não foi possível a determinação do CE_{50} , apesar da constatação de efeitos subletais nos testes, considerou-se a amostra como tendo indícios de toxicidade.

Além disso, foram realizados *testes de sensibilidade* mensais com cloreto de sódio para aferição da sensibilidade dos organismos cultivados e mensuração de sua capacidade de detectar substâncias tóxicas presentes nas amostras que são ensaiadas (SANTOS et al., 2007). Cada teste de sensibilidade foi realizado em 2 placas de cultivo celular de 12 poços. Também foi composto por 3 réplicas, tanto para o controle negativo (meio de cultivo de hidra sem EDTA) como para cada diluição do tóxico de referência (NaCl - concentrações: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 g L⁻¹). Para seleção das hidras, montagem do teste e avaliação foram adotados os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Para a preparação das diluições do tóxico de referência (NaCl) foi preparada uma solução de NaCl (5 g L⁻¹), em meio de hidra sem EDTA. A partir dessa solução, foram preparadas as diluições, conforme a Tabela 5.

Tabela 5 - Preparo das diluições para o teste de sensibilidade com *H. attenuata*

Volume da solução NaCl 5 g L ⁻¹ (mL)	Volume de diluente*	Volume final da solução (mL)	Concentração da solução (g L ⁻¹)
10	90	100	0,5
20	80	100	1,0
30	70	100	1,5
40	60	100	2,0
50	50	100	2,5
60	40	100	3,0
70	30	100	3,5

*Diluente: meio de cultivo de hidra sem EDTA

3.6 Análise Estatística Multivariada

Os dados obtidos pelas avaliações de parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos foram avaliados estatisticamente com técnicas multivariadas usando os pacotes do *CANOCO for Windows 4.5* (Biometris, Wageningen, Holanda) para a Análise de Componentes Principais, e o programa *Primer5* (Plymouth Marine Laboratory, Primer-E, Reino Unido) para a Análise de Agrupamentos Hierárquicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes físicos e químicos

Os resultados das análises físicas e químicas estão apresentados na Tabela 6. Em relação aos parâmetros analisados, quatro nascentes (1, 2, 5 e 10) apresentaram pelo menos um resultado em desacordo com a legislação (Portaria 518/MS - 2004), o que está salientado em negrito na tabela.

As águas das nascentes 1, 2 e 5 apresentaram os maiores valores para a concentração de nitrato (NO_3^-) e, em pelo menos um mês de análise, ultrapassaram o valor de 10 mg L^{-1} estabelecido como Valor Máximo Permitido (VMP). Isso é algo bastante preocupante devido aos riscos associados à ingestão de água contendo nitrato, especialmente para bebês que podem desenvolver a doença da metaemoglobinemia, a qual dificulta o transporte de oxigênio na corrente sanguínea.

O limite de 10 mg L^{-1} para o nitrato foi estabelecido a partir de estudos sobre a ocorrência de metaemoglobinemia em crianças que consumiam águas de poços (BOUCHARD et al., 1992), sendo que existem relatos de ocorrência da doença originadas pela ingestão de águas com teores de nitrato inferiores a esse valor (MATO, 1996). Além disso, algumas pesquisas relacionam a ingestão de elevado teor de nitrato com o aumento de certos tipos de câncer (OLMOS & ECLEVENIA, 1983; RADEMACHER et al., 1992) e estudos adicionais estão sendo realizados nesse campo. Porém, os efeitos carcinogênicos dos derivados de nitrogênio ainda não foram considerados no estabelecimento dos limites permissíveis previstos na legislação referente às águas para consumo humano.

Alguns autores consideram que concentrações superiores a 3 mg L^{-1} de nitrato são indicativos de contaminação devido às atividades antropogênicas (BOUCHARD et al., 1992; FOSTER & HIRATA, 1993). Em 65,6% (21 de 32) das análises realizadas nas águas das nascentes constataram-se valores acima de 3 mg L^{-1} , sugerindo poluição devido a atividades humanas. Apenas as águas das nascentes 11 e 17 não apresentaram valores acima desta concentração (3 mg L^{-1}) nos quatro meses em que foram analisadas. Tal observação pode ser explicada pela localização destas nascentes no município: a nascente 11 está localizada dentro de uma pequena área verde (mata) no Jardim Brasília e a 17 fica no Bairro Santa Olímpia, o qual é mais afastado da cidade (ver mapa na Figura 4, item 3), ambos os locais com menor interferência antrópica.

Para a amônia (NH_3), em nenhuma das análises foram constatados teores maiores que o permitido na legislação ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$), sendo que os valores mais elevados foram encontrados na nascente 11 ($1,26 \text{ mg L}^{-1}$) e 3 ($1,08 \text{ mg L}^{-1}$), ambos na coleta de janeiro de 2010, período mais chuvoso do ano.

Para os parâmetros cor e turbidez, em apenas uma ocasião (nascente 10 em janeiro de 2010) foram ultrapassados os respectivos VMPs. A cor medida foi de $16,0 \text{ mg L}^{-1}$ Platina-Cobalto e a turbidez de $8,0 \text{ uT}$. Talvez isso apenas tenha sido um caso pontual, já que para todas as outras análises desses dois parâmetros na mesma nascente os valores encontrados foram baixos, distantes dos limites da legislação.

A nascente 1 apresentou em três análises consecutivas valores acima do permitido para a concentração de manganês (janeiro: $0,12$; abril: $0,14$ e julho: $0,13 \text{ mg L}^{-1}$). Já a nascente 2 teve uma ocorrência de concentração inadequada de ferro em abril de 2010 ($0,33 \text{ mg L}^{-1}$). Todas as outras análises retornaram resultados dentro do padrão de potabilidade para esses dois elementos químicos. É bastante provável que esteja ocorrendo contaminação das nascentes 1 e 2 por esses metais devido à alguma interferência antropogênica. Já para o alumínio, todas as nascentes se encontram dentro dos padrões de potabilidade, em todos os meses de análise.

Tabela 6 - Resultados das análises de parâmetros físicos e químicos da água das nascentes (janeiro, abril, julho e outubro de 2010)

Parâmetro	Unidade	VMP*	NASCENTE 01				NASCENTE 02				NASCENTE 03				NASCENTE 04			
			JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT
Condutividade	$\mu\text{S cm}^{-1}$	–	255	260	252	239	232	235	230	217	245	279	280	261	244	197	165	153
pH	–	–	5,42	5,03	5,00	5,01	5,51	5,34	5,40	5,51	6,07	6,24	5,90	5,97	5,57	5,71	5,40	5,59
Cor	U. Hazen (mg L^{-1} Pt-Co)	15	2	0	0	2,5	2	0	0	1,1	1	1	0	1,4	1	1	0	1,6
Turbidez	U. Turbidez (uT)	5	1,10	0,68	0,45	0,81	0,38	0,43	0,32	1,10	0,47	0,28	0,33	0,60	0,75	0,21	0,17	0,45
Oxig. Cons.	$\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$	–	1,0	0,98	0,6	0,70	0,5	1,22	0,56	1,00	0,5	2,01	0,44	0,70	0,4	1,98	0,58	0,70
Dureza	$\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$	500	57	64	53	73	27	30	26	37	61	70	66	62	32	45	32	37
Ferro	mg L^{-1}	0,3	0,03	0,01	0,02	0,01	0,01	0,33	0,02	0,01	0,02	0,04	0,01	0,01	0,04	0,04	0,01	0,01
Alumínio	mg L^{-1}	0,2	0,08	0,10	0,07	0,08	0,05	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01
Manganês	mg L^{-1}	0,1	0,12	0,14	0,13	< 0,01	0,01	0,04	0,04	< 0,01	0,02	0,06	0,05	< 0,01	0,02	0,03	0,03	< 0,01
Amônia	mg L^{-1}	1,5	0,17	0,09	< 0,01	0,38	0,55	0,12	< 0,01	0,10	1,08	0,15	0,14	0,39	0,56	0,05	< 0,01	0,16
Nitrato	mg L^{-1}	10	14,04	8,94	7,75	9,63	12,40	10,44	6,51	5,80	3,50	4,00	2,74	2,48	4,74	8,52	4,21	2,98
Sól. Diss. Totais	mg L^{-1}	1000	151	163	178	175	190	190	130	180	132	110	128	184	120	105	112	127
Parâmetro	Unidade	VMP*	NASCENTE 05				NASCENTE 10				NASCENTE 11				NASCENTE 17			
			JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT	JAN	ABR	JUL	OUT
Condutividade	$\mu\text{S cm}^{-1}$	–	314	319	289	302	159	182	195	183	157	139	149	144	117	125	121	125
pH	–	–	6,19	6,11	6,30	6,28	5,64	5,43	5,50	5,60	6,28	6,04	6,30	6,35	6,08	5,88	6,30	6,26
Cor	U. Hazen (mg L^{-1} Pt-Co)	15	1	1	0	1,2	16	0	0	3,5	1	2	0	4,2	1	0	0	2,3
Turbidez	U. Turbidez (uT)	5	0,62	0,17	0,23	0,22	8,00	1,36	0,60	1,13	0,47	0,36	0,20	0,16	0,90	0,40	0,28	0,94
Oxig. Cons.	$\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$	–	0,9	2,20	0,47	1,00	1,2	1,68	0,85	1,40	0,6	2,30	1,1	0,80	0,4	3,20	0,97	0,90
Dureza	$\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$	500	108	106	99	106	38	46	53	50	80	72	79	73	51	49	53	56
Ferro	mg L^{-1}	0,3	0,04	0,16	0,01	0,01	0,12	0,08	0,01	0,01	0,03	0,05	0,01	0,01	0,06	0,08	0,02	0,01
Alumínio	mg L^{-1}	0,2	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,02	< 0,01	0,01	0,01	0,02	< 0,01	0,01	0,01	0,01
Manganês	mg L^{-1}	0,1	0,01	0,02	0,01	< 0,01	0,02	0,02	0,02	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	0,01	< 0,01
Amônia	mg L^{-1}	1,5	0,39	0,05	< 0,01	0,12	0,53	0,1	< 0,01	0,07	1,26	0,09	< 0,01	0,09	0,58	0,03	< 0,01	0,09
Nitrato	mg L^{-1}	10	7,68	10,96	5,68	5,13	7,21	7,00	5,11	6,16	2,28	1,28	0,98	2,34	1,76	2,04	2,03	2,42
Sól. Diss. Totais	mg L^{-1}	1000	204	137	138	219	135	129	100	193	10	19	15	20	56	92	65	84

*VMPs estabelecidos pela Portaria 518/MS (2004). Os valores em negrito indicam resultados em desacordo com essa legislação

Nas análises de dureza, nenhuma amostra das águas das nascentes ultrapassou o VMP (de $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) estabelecido pela Portaria 518/MS (2004). A Figura 10 apresenta as médias (entre as análises de janeiro, abril, julho e outubro) dos valores de dureza para cada nascente. A partir desses valores médios, as águas das nascentes 2, 4 e 10 foram consideradas como moles ou brandas (dureza menor que 50 mg L^{-1}) e das nascentes 1, 3, 5, 11 e 17 como tendo dureza moderada (valores entre 50 e 150 mg L^{-1}).

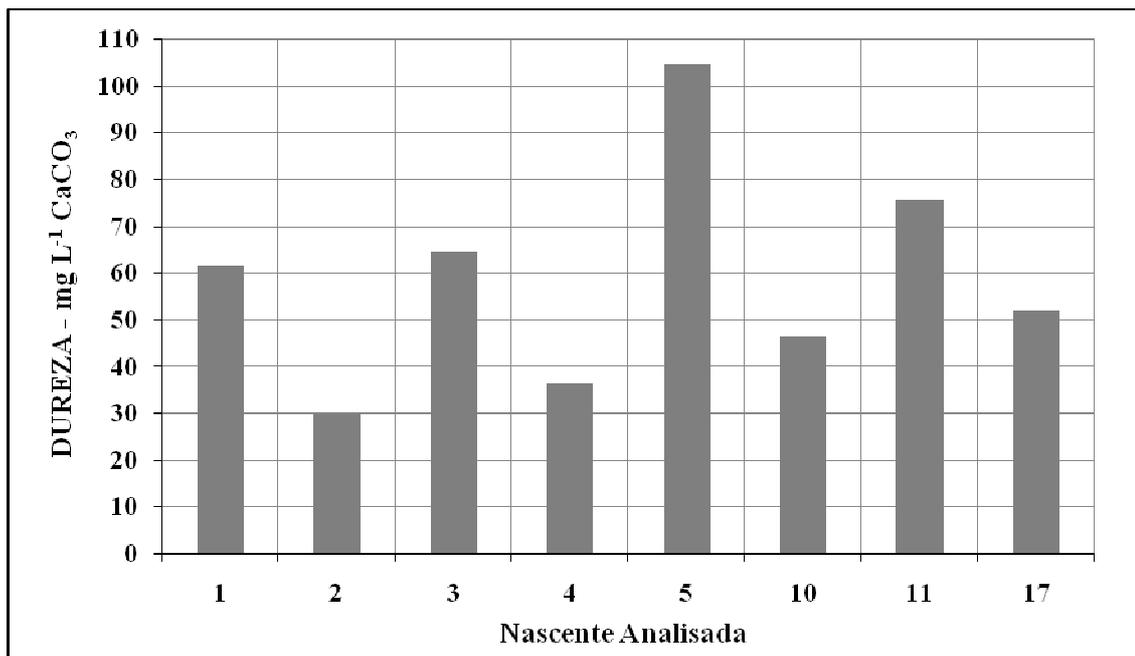


Figura 10 - Valores médios para dureza (mg L^{-1} de CaCO_3) para cada nascente

Em relação ao pH das amostras de água analisadas, todas podem ser consideradas como tendo pH ácido ou levemente ácido, já que todos os valores foram menores do que 7,0. O menor valor encontrado foi 5,00 (nascente 1/julho) e o maior foi 6,35 (nascente 11/outubro). Como discutido anteriormente, o pH é uma das variáveis ambientais mais complexas, é influenciado por inúmeros fatores físico-químicos e é de difícil interpretação. Constatou-se que entre cada nascente há uma variação nos valores de pH, reforçando a idéia de complexidade desse parâmetro.

Todas as nascentes avaliadas apresentaram valores para sólidos dissolvidos totais dentro do padrão de potabilidade (VMP = 1000 mg L^{-1}), conforme demonstrado na Tabela 6 (valores absolutos de cada análise) e na Figura 11 (médias das análises de janeiro, abril, julho e outubro). As maiores médias para esse parâmetro foram das nascentes 5 e 2 ($174,5$ e $172,5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente).

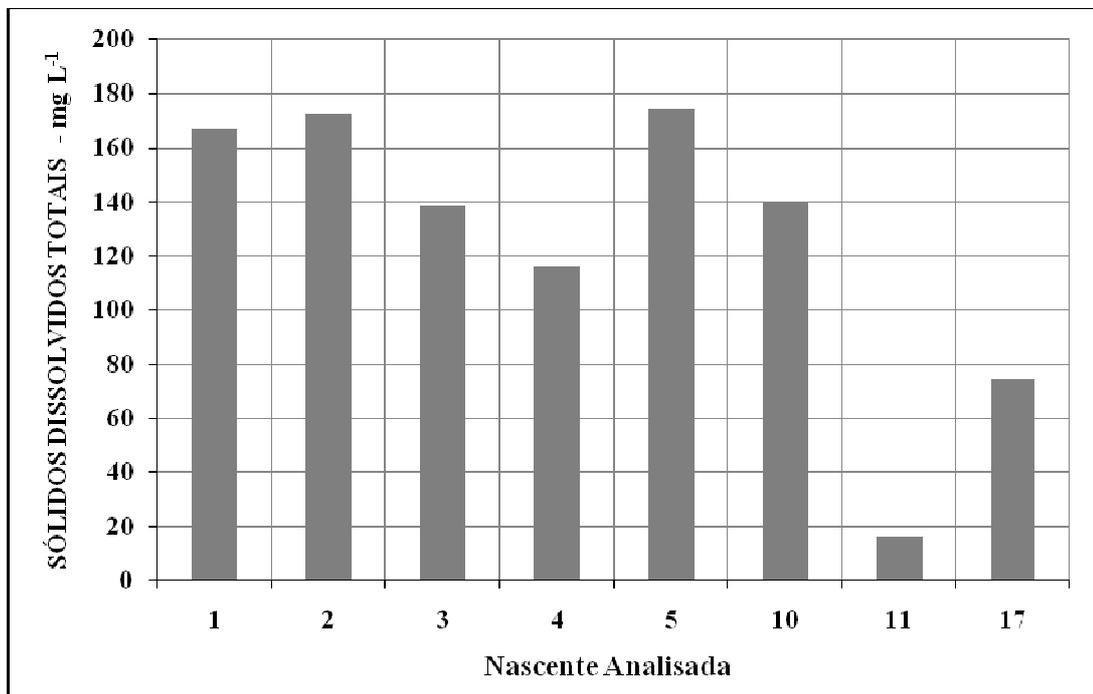


Figura 11 - Valores médios para sólidos dissolvidos totais (mg L⁻¹) para cada nascente

A condutividade expressa a presença de íons em solução e quanto maior seu valor maior a quantidade de íons na amostra. Para amostras muito contaminadas por esgotos, a condutividade pode variar de 100 a 10.000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (BRASIL, 2006c; CETESB, 1995; RICHTER; NETO, 1991). Por exemplo, a condutividade média da água do rio Piracicaba foi de 232,02 (dados obtidos dos registros do SEMAE, do período entre abril de 2004 a setembro de 2010, na cidade de Piracicaba), sendo o nível de poluição deste rio bastante acentuado. Entretanto, nem sempre valores elevados de condutividade correspondem a amostras de água muito contaminadas. Nas águas das nascentes avaliadas no presente estudo, algumas apresentaram valores médios mais altos que os do rio Piracicaba, mas esse fato não indica necessariamente contaminação química elevada. Pode apenas refletir a natureza e composição das rochas e do solo que entram em contato com essas águas subterrâneas, o que é determinante em suas propriedades. A Figura 12 apresenta de forma gráfica os valores médios para condutividade da água de cada nascente avaliada.

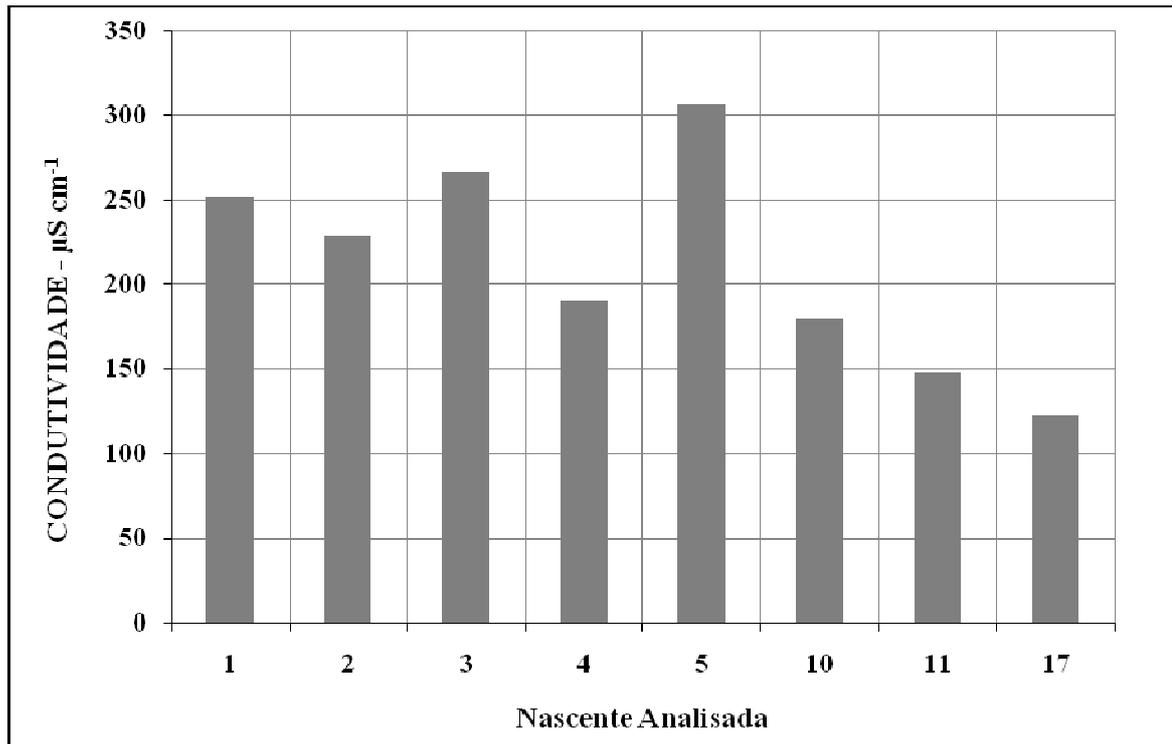


Figura 12 - Valores médios para condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) para cada nascente

De um modo geral, os valores para oxigênio consumido (OC) foram baixos, embora tenha sido possível observar uma tendência de aumento nesse parâmetro no mês de abril (ver Tabela 6), em quase todas as nascentes analisadas. Isso reflete uma baixa quantidade de matéria orgânica capaz de ser oxidada por O_2 nessas águas. O maior valor absoluto encontrado para esse parâmetro foi na nascente 17, em abril de 2010 ($3,2 \text{ mg L}^{-1} \text{ O}_2$), sendo esse valor comparável a valores obtidos para água tratada.

Os resultados das análises de elementos-traço por espectrometria de emissão atômica indicaram que as águas de todas as nascentes investigadas no presente estudo encontram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação vigente, apresentando valores para cada elemento químico abaixo de seus respectivos VMPs. A Tabela 7 mostra as concentrações encontradas desses elementos (em mg L^{-1}) para as oito nascentes avaliadas.

Tabela 7 - Elementos-traço (mg L^{-1}) na água das nascentes, determinada por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado individualmente (ICP-AES)

Elemento	VMP (mg L^{-1})	NASC. 01	NASC. 02	NASC. 03	NASC. 04	NASC. 05	NASC. 10	NASC. 11	NASC. 17
Bário (Ba)	0,7	0,1655	0,0655	0,0417	0,0313	0,1018	0,0600	0,0406	0,2222
Cádmio (Cd)	0,005	0,0001	0,0001	N.D.	N.D.	0,0002	N.D.	0,0002	0,0003
Chumbo (Pb)	0,01	0,0026	0,0018	0,0001	0,0016	0,0009	0,0029	0,0008	0,0038
Cobre (Cu)	2	0,0013	0,0015	0,0011	N.D.	0,0029	0,0015	0,0008	0,0009
Cromo (Cr)	0,05	0,0012	0,0005	0,0002	0,0009	0,0002	0,0011	0,0005	0,0005
Níquel (Ni)	0,07*	0,0092	0,0003	0,0020	0,0012	0,0011	0,0010	0,0018	0,0005
Zinco (Zn)	5	0,1062	0,0704	0,0502	0,0527	0,0570	0,0417	0,0352	0,0251

*VMP (níquel) estabelecido pela revisão da Portaria 518/MS (2004) (ainda não publicada). Para os outros elementos, os respectivos VMPs estão na Portaria 518/MS (2004)

N.D. = não-detectado

Os elementos zinco (Zn) e bário (Ba) foram os mais abundantes nas águas dessas nascentes, sendo o bário mais abundante nas nascentes 1, 5, 10, 11 e 17, e o zinco predominando nas nascentes 2, 3 e 4. A amostra de água da nascente 17 foi a que apresentou a maior concentração absoluta para um elemento (Ba), cerca de $0,22 \text{ mg L}^{-1}$. A água da nascente 1 apresentou o segundo maior valor para esse mesmo elemento, em torno de $0,16 \text{ mg L}^{-1}$. A maior concentração do elemento zinco foi encontrada na água da nascente 1 ($0,106 \text{ mg L}^{-1}$). Para todos os demais elementos analisados (Ni, Cr, Cu, Pb e Cd), em todas as nascentes foram obtidos valores menores do que $0,01 \text{ mg L}^{-1}$, o que indica que a quantidade dos mesmos nessas águas é ínfima. De um modo geral, o elemento cádmio foi o que teve as menores concentrações nessas águas.

Esses resultados permitem a conclusão de que, pelo menos por essa análise pontual, essas nascentes apresentam concentrações naturais desses elementos-traço em suas águas. Pode-se argumentar que as águas dessas nascentes foram coletadas em um período que sucedeu uma seca prolongada (início de setembro/2010) e, dessa forma, pouca infiltração de água ocorreu, o que pode ter influenciado os níveis dos elementos.

4.2 Testes microbiológicos

4.2.1 Análise qualitativa de coliformes totais e *E. coli* (presença/ausência)

As águas de todas as nascentes avaliadas no presente estudo apresentaram contaminação por coliformes totais em pelo menos um dos meses analisados (total de 12 avaliações entre janeiro e dezembro de 2010) (Figura 13). As nascentes 1, 3, 4, 10, 11 e 17 estavam contaminadas com esses microrganismos em 100% das análises, enquanto as nascentes 2 e 5 apresentaram coliformes totais em 8,3% e 91,7% das avaliações, respectivamente. Em relação à *E. coli*, apenas na nascente 2 não foi detectado esse microrganismo. As águas de todas as outras nascentes apresentaram esse microrganismo indicador de contaminação fecal. A nascente 1 apresentou a maior taxa de contaminação, já que em 100% das análises foi detectada a presença de *E. coli*. Em 58,3% das avaliações mensais da nascente 17 foram encontrados esse mesmo microrganismo. As nascentes 4 e 5 estavam contaminadas em 6 meses avaliados (50%) e as demais apresentaram taxas menores de 50% para *E. coli* (Figura 13).

Esses resultados estão de acordo com os dados fornecidos pelo SEMAE (o qual possui um arquivo histórico das avaliações de qualidade das águas das nascentes do município - ver Figura 2, item 3) e também com pesquisas realizadas por outros pesquisadores (BATISTA, 1996; GARBOGGINI, 1999; MELLADO, 2008). Tendo em vista a legislação vigente, todas as águas dessas nascentes são inapropriadas para consumo humano de acordo com esses resultados microbiológicos.

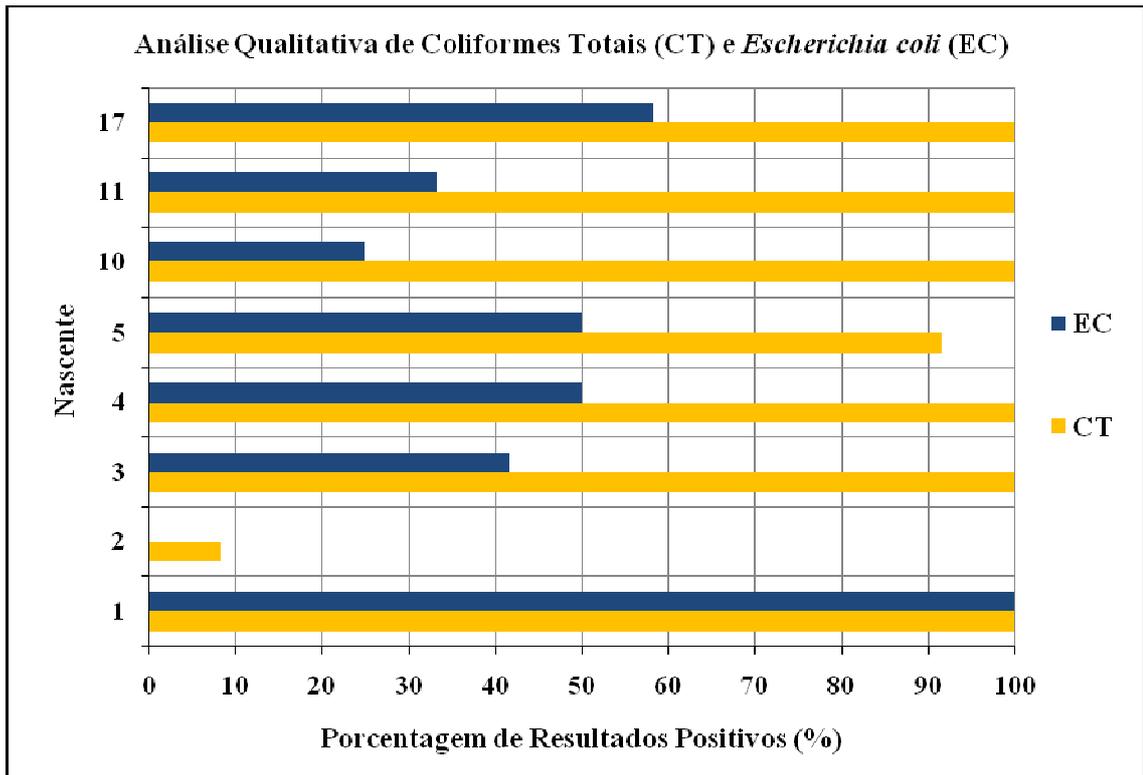


Figura 13 - Frequência de contaminação das nascentes por coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC)

4.2.2 Análise quantitativa de coliformes totais e *E. coli* (tubos múltiplos)

A quantificação de coliformes totais e *E. coli* realizada a cada três meses (total de quatro análises) indicou uma grande variação no NMP/100 mL entre cada nascente analisada e entre cada avaliação trimestral. A Figura 14 representa graficamente o índice de NMP/100 mL para todas as nascentes nas quatro avaliações realizadas, permitindo a comparação dos dados entre as nascentes. As Figuras 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21 mostram os índices de NMP/100 mL para cada nascente (1, 3, 4, 5, 10, 11 e 17, respectivamente), levando em consideração os limites de confiança de 95%. Esses gráficos mostram a variação em cada nascente entre as quatro avaliações.

Os resultados das análises quantitativas de coliformes totais e *E. coli* indicam um grave problema de contaminação em sete das oito nascentes estudadas. Apenas a nascente 2 não apresentou contaminação por esses grupos de microrganismos nas avaliações quantitativas (embora tenha sido detectada a presença de coliformes totais nessa nascente, conforme visto no item anterior). A legislação obriga que para toda água de consumo humano se tenha ausência desses microrganismos na água.

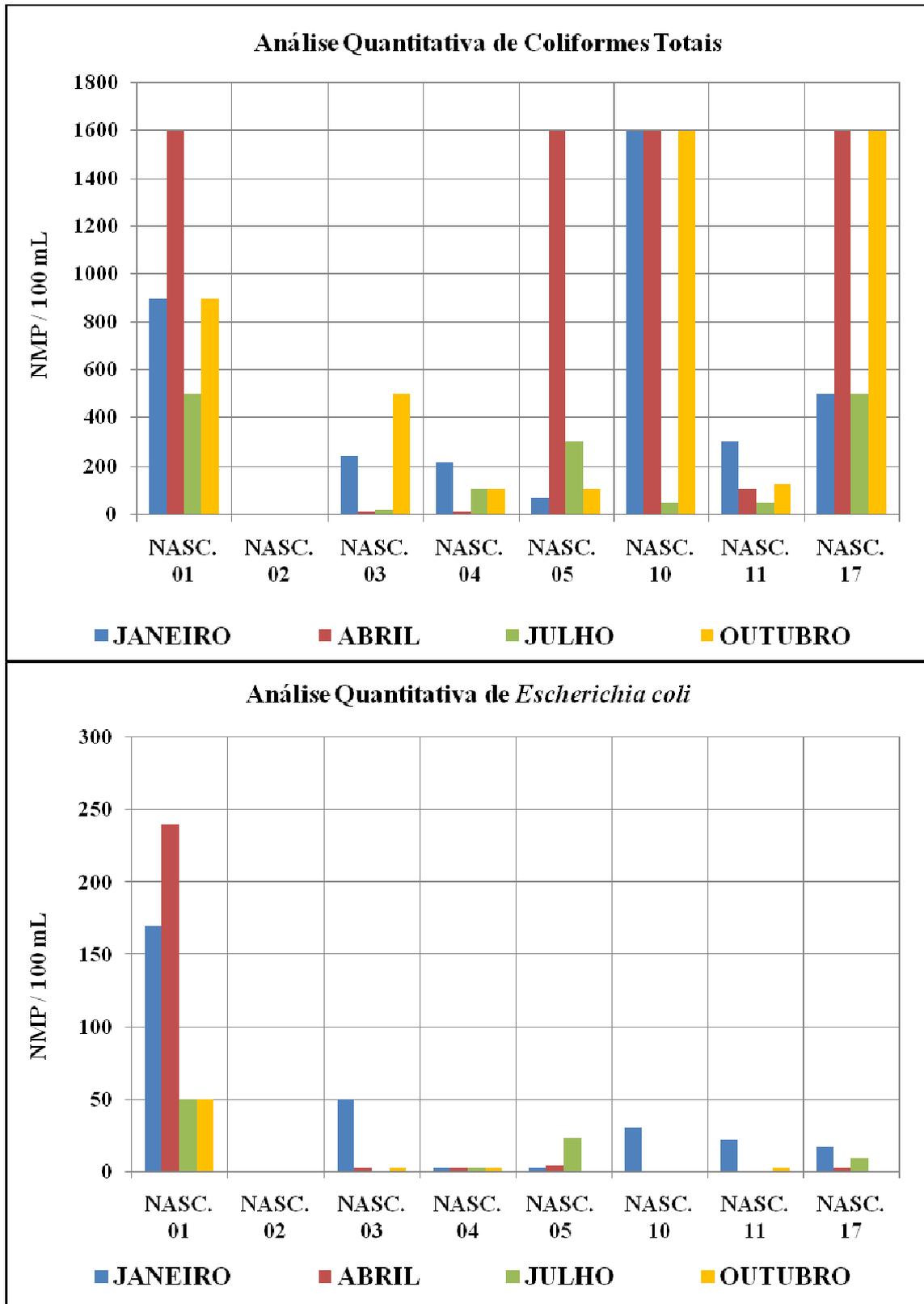


Figura 14 - Índice de NMP/100 mL de água analisada das nascentes para coliformes totais (acima) e *E. coli* (abaixo), em quatro períodos de avaliação (2010)

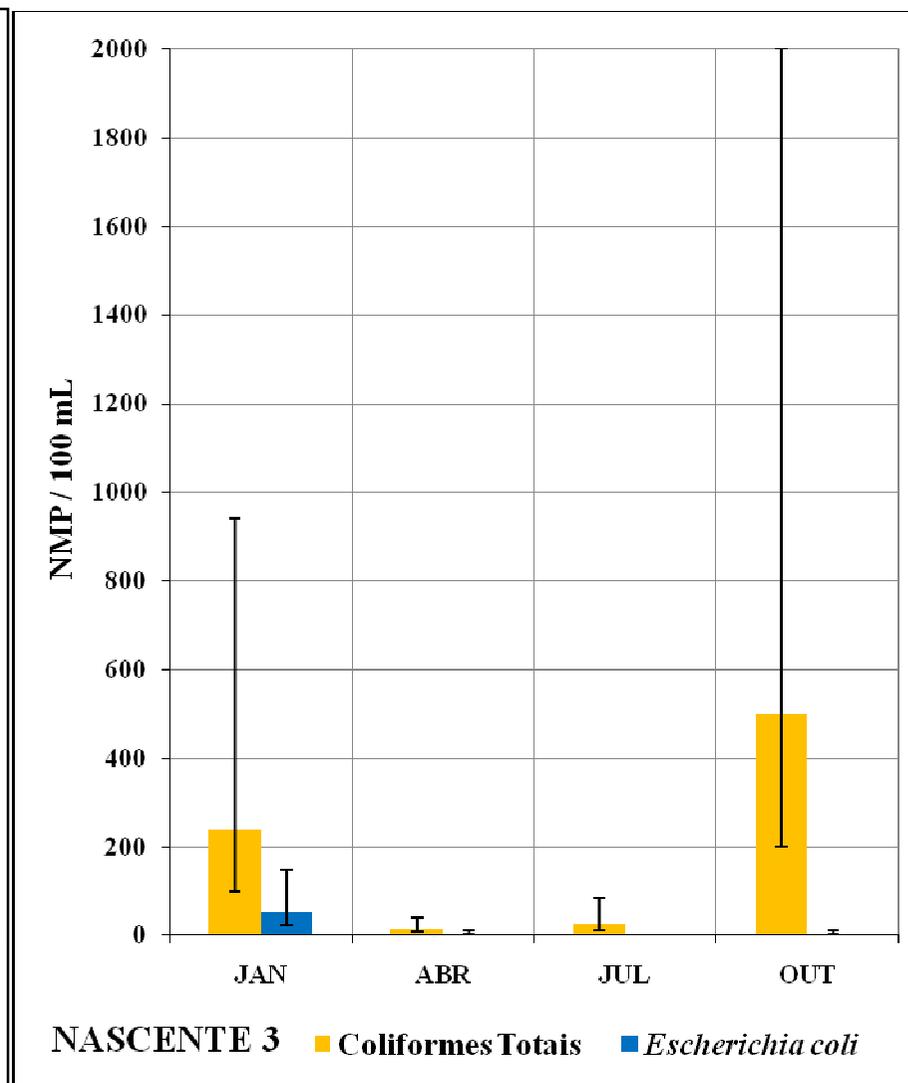
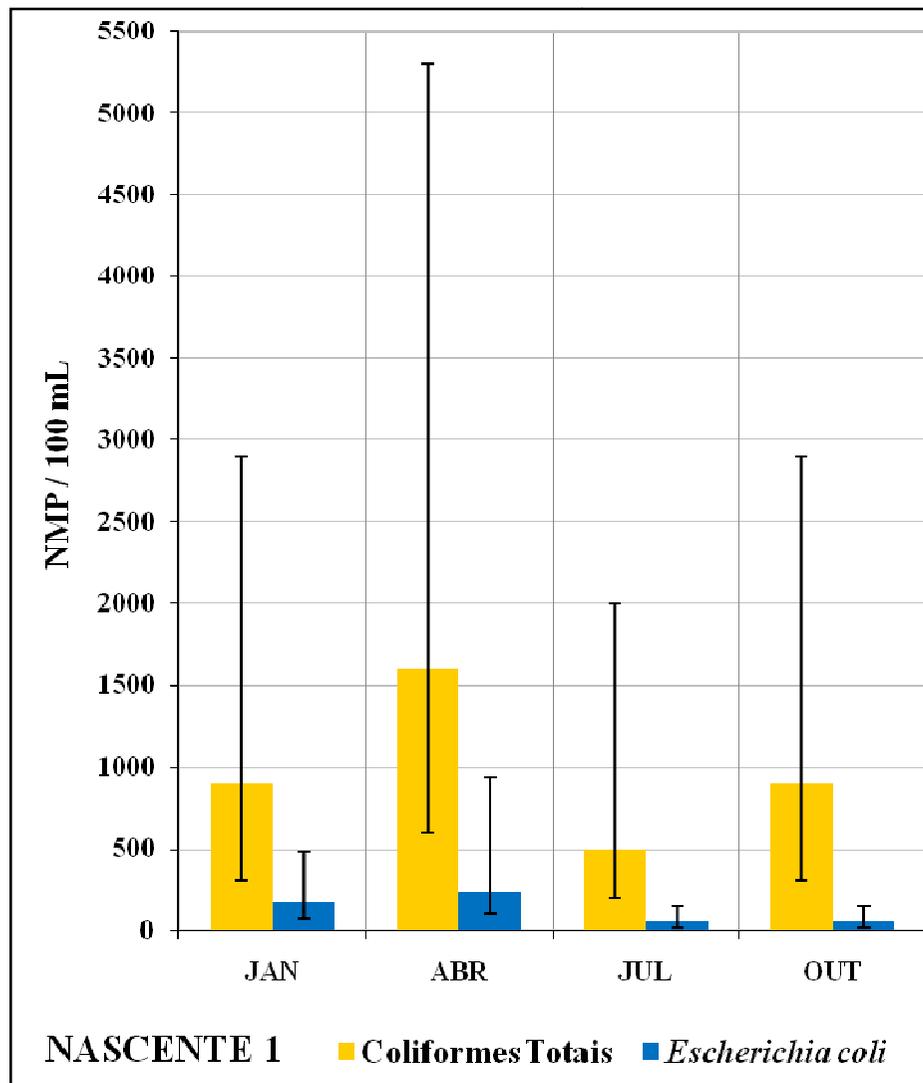


Figura 15 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 1)

Figura 16 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 3)

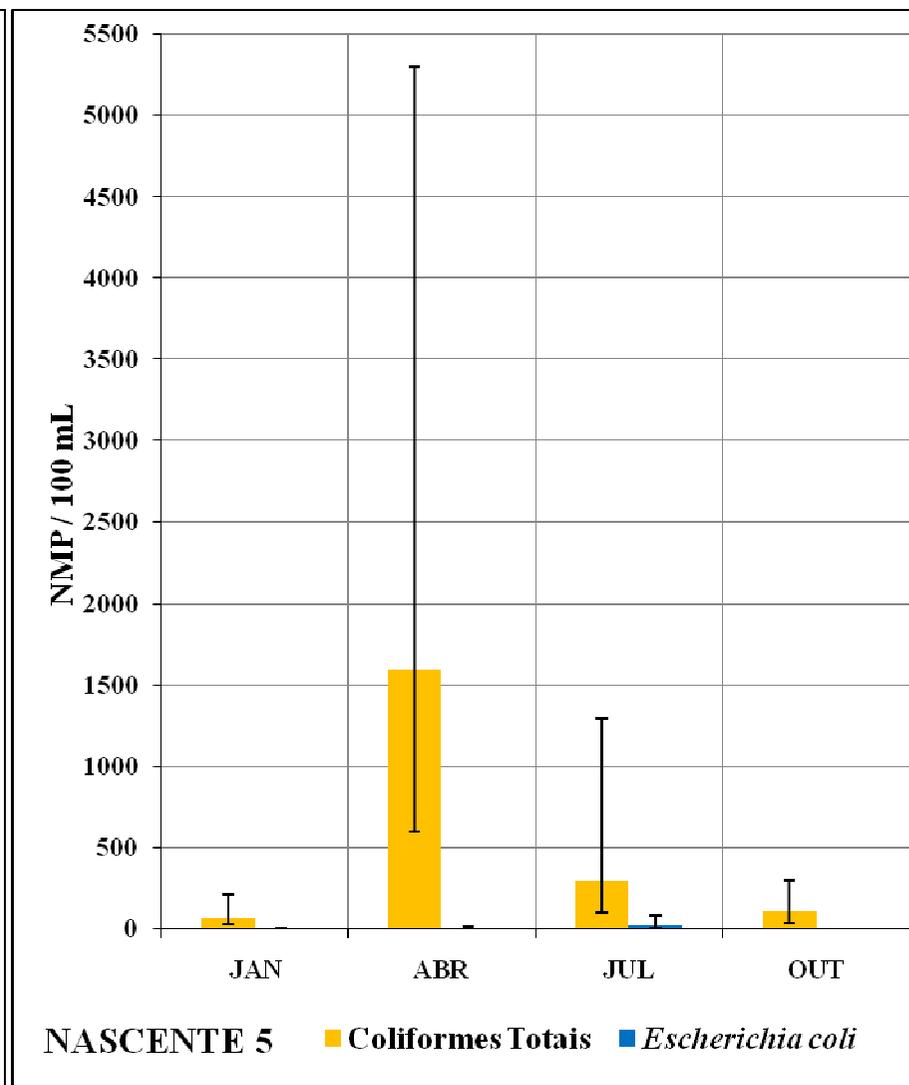
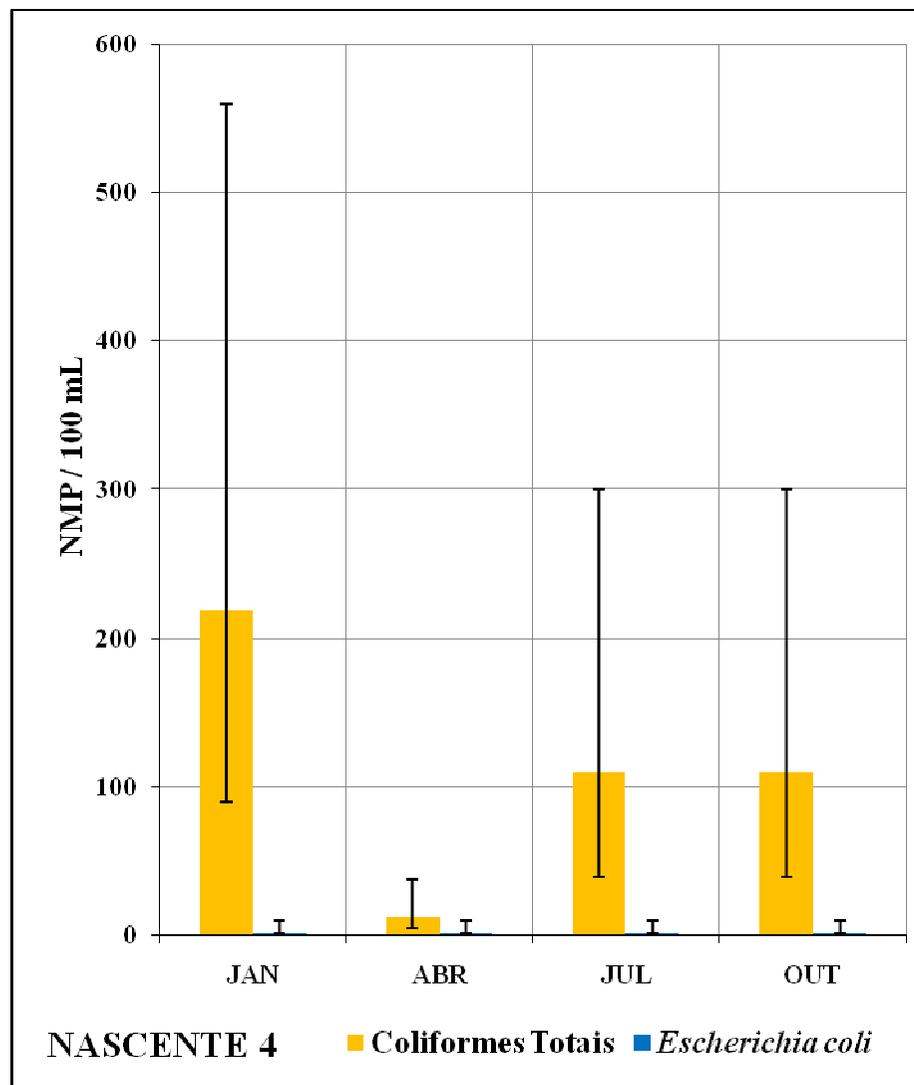


Figura 17 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 4) **Figura 18** - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 5)

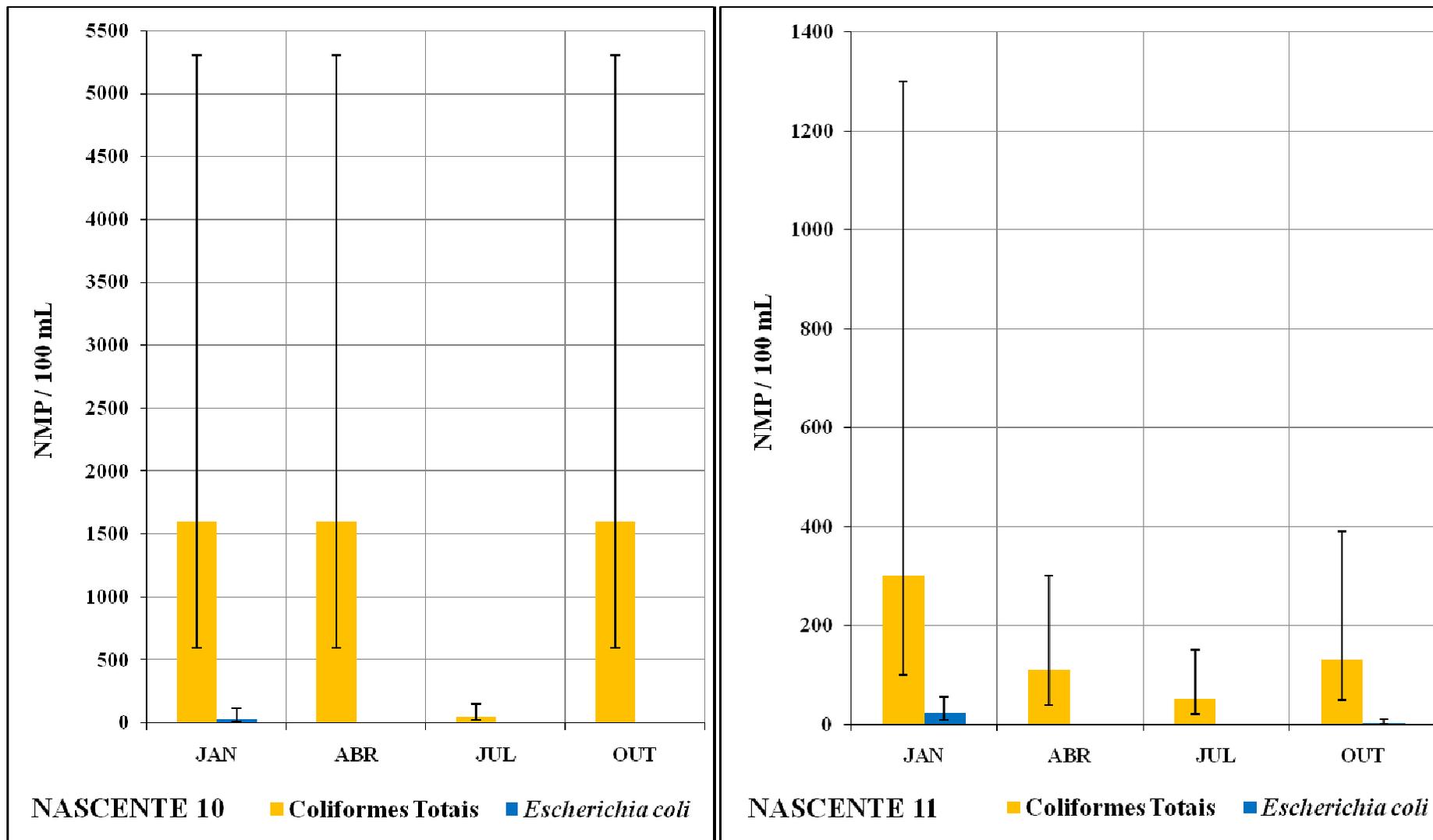


Figura 19 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 10) Figura 20 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 11)

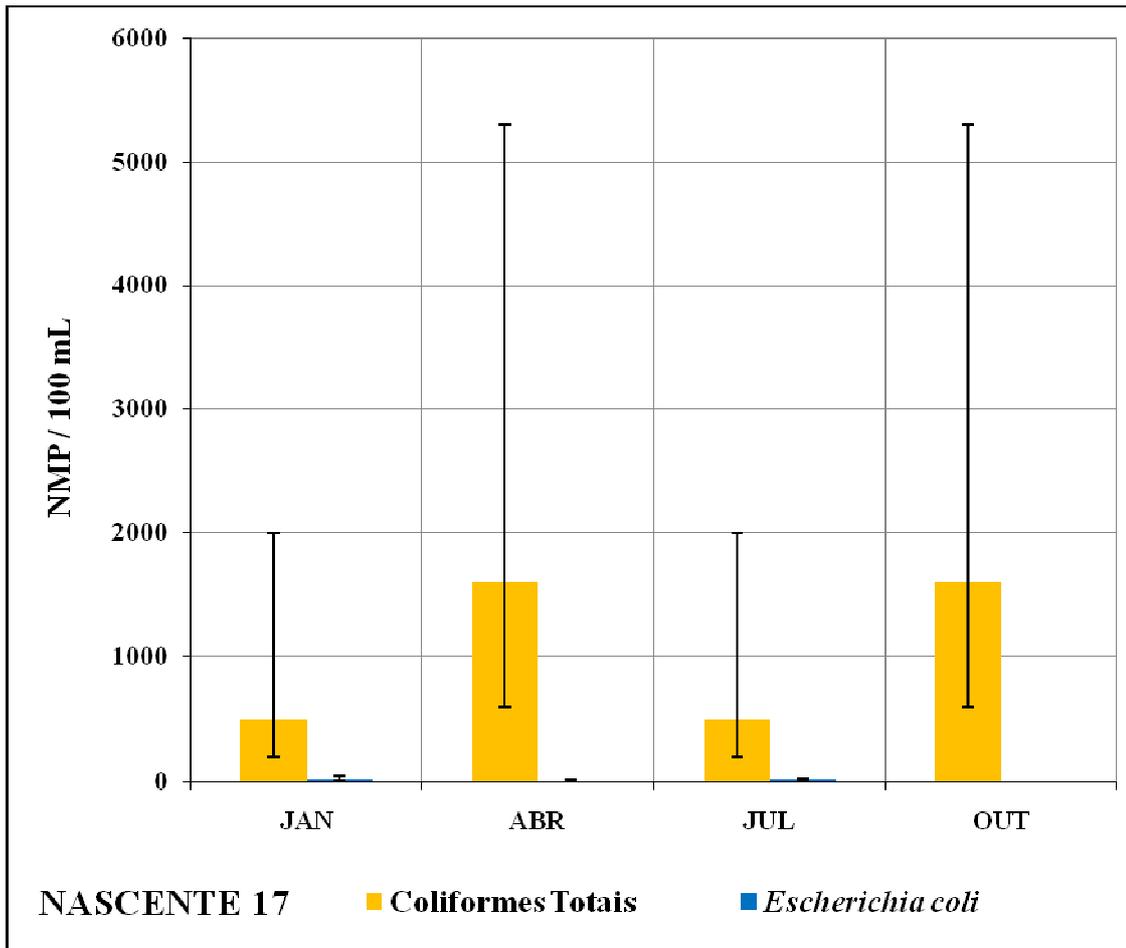


Figura 21 - Índice NMP/100 mL e limites de confiança de 95 % (nascente 17)

As nascentes 1, 10 e 17 apresentaram as maiores médias do NMP/100 mL de água analisada para coliformes totais (975, 1212,5 e 1050, respectivamente). A nascente 1 teve o maior índice de contaminação na análise de abril (NMP/100 mL = 1600), conforme pode-se observar nas Figuras 14 e 15. A nascente 3 atingiu o maior valor para esses microrganismos em outubro (NMP/100 mL = 500), tendo como valor médio 194 (Figuras 14 e 16). A nascente 4 teve o maior índice de contaminação em janeiro (NMP/100 mL = 220) e seu valor médio foi de 113,25 (Figuras 14 e 17). O maior valor para a nascente 5 foi obtido em abril (NMP/100 mL = 1600) e seu valor médio foi de 520, conforme apresentado nas Figuras 14 e 18. A nascente 10 apresentou em três meses de análise (janeiro, abril e outubro) um valor elevado de coliformes totais (NMP/100 mL = 1600), conforme demonstram as Figuras 14 e 19. Já a nascente 11 apresentou um máximo de contaminação no mês de janeiro (NMP/100 mL = 300) e teve como valor médio 147,5 (Figuras 14 e 20). Por fim, a nascente 17 teve seu pico de contaminação nas análises de abril e outubro (NMP/100 mL = 1600), como mostram as Figuras 14 e 21. Pela variação dos resultados para todas as nascentes e para todas as análises,

ficou evidente um padrão aleatório nas taxas de contaminação, não havendo associação entre o NMP/100 mL para coliformes totais e a pluviosidade acumulada dos 5 dias anteriores à coleta das amostras.

A nascente 1 foi a que apresentou os maiores valores de NMP/100 mL para *E. coli*, tendo como valor médio 127,5, o que a torna a de pior qualidade do ponto de vista microbiológico, já que esse microrganismo é o melhor indicador de contaminação fecal da água. É possível especular que esses elevados valores para *E. coli* nessa nascente estejam relacionados com a proximidade da mesma a um cemitério da cidade, podendo estar ocorrendo a contaminação do lençol freático com esse e outros microrganismos e também substâncias químicas derivadas da decomposição dos cadáveres (como foi evidenciado pelos valores altos de nitrato). Para todas as outras nascentes nunca foi observado valores de NMP/100 ml para *E. coli* maiores do que 50, em qualquer dos meses analisados. Mesmo assim, essas águas são inapropriadas para consumo, pois a Portaria 518/MS (2004) obriga ausência de *E. coli* em cada 100 mL de água. A ausência desse microrganismo foi observada em algumas avaliações de determinadas nascentes, mas esse fato tem caráter temporário, já que existe grande probabilidade de ocorrerem novas contaminações no futuro.

Como as águas dessas nascentes não recebem nenhum tipo de tratamento para desinfecção e as condições sanitárias das mesmas são precárias, provavelmente esse microrganismo será detectado em novos testes microbiológicos. Portanto, a Vigilância Sanitária e a Secretaria Municipal de Saúde devem adotar uma postura mais rígida nesta questão, intervindo para que o consumo dessas águas impróprias seja interrompido. Se a opção for manter o funcionamento das nascentes da cidade, deve-se adotar um programa de tratamento para remoção dos microrganismos e substâncias químicas com potencial para trazer agravos à saúde das pessoas consumidoras. Um procedimento de filtração com carvão ativado poderia remover as substâncias contaminantes das águas das nascentes, mas não se pode prever a efetividade dessa remoção, devido à complexidade da composição de elementos nessas águas. Após a filtração, essas águas poderiam ser cloradas para eliminação das bactérias presentes. Entretanto, pensando que o município possui água tratada de qualidade, a qual é prontamente disponível à população pelas redes de distribuição do SEMAE, é inviável atualmente o tratamento dessas águas de profundidade.

4.2.3 Contagem padrão de bactérias heterotróficas

Os resultados para a contagem padrão de bactérias heterotróficas (Tabela 8) indicaram que as águas das nascentes 1, 3, 10 e 17 apresentaram, em pelo menos um mês, valores acima do permitido pela Portaria 518/MS (2004) (500 UFC/mL), tornando-as impróprias ao consumo. Além disso, essas mesmas nascentes apresentaram as maiores médias nesse parâmetro. A nascente 17 apresentou resultados maiores que o VMP em cinco dos doze meses de análise (maior frequência de contaminação) e também foi a de maior média de bactérias heterotróficas (1368,9 UFC/mL). Como discutido anteriormente, o risco de consumo dessas águas contendo elevado número de bactérias é maior para pessoas idosas, recém-nascidos e imunodeprimidas.

Tabela 8 - Contagem Padrão de Bactérias Heterotróficas* (janeiro-dezembro/2010)

MÊS	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	Média
N. 01	405	85	6500	180	70	200	208	180	11	503	89	59	707,5
N. 02	1	0	1	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0,5
N. 03	23	800	80	21	10	70	132	10	0	36	45	49	106,3
N. 04	132	370	13	27	9	84	140	17	1	31	27	18	72,4
N. 05	36	6	170	210	56	17	203	0	45	164	45	45	83,1
N. 10	656	141	130	150	110	41	147	230	41	270	280	65	188,4
N. 11	115	55	140	65	6	150	171	8	7	15	15	4	62,6
N. 17	507	6550	180	200	513	69	282	1560	6500	33	18	15	1368,9

*Valores expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de água (UFC/mL). Em negrito: resultados em desacordo com a Portaria 518/MS (2004), a qual estabelece o VMP de 500 UFC/mL para toda água de consumo humano

Há uma grande variação nos resultados, tanto entre nascentes distintas, como para cada avaliação mensal de uma mesma nascente. O índice pluviométrico e a contagem padrão de bactérias heterotróficas também não tiveram associação. Isso se deve a uma infinidade de fatores que podem afetar o número de bactérias nessas águas, os quais não são de simples mensuração e associação. Portanto, nota-se uma variação aleatória nos valores de bactérias heterotróficas (UFC/mL de água) nessas nascentes.

4.3 Teste de ecotoxicidade com *H. attenuata*

Os testes mensais de sensibilidade das hidras ao cloreto de sódio, mostraram um valor médio para CL_{50} de 3,03 e CE_{50} de 1,39 g L⁻¹ de NaCl (Figura 22). Pontos acima da linha média indicam os meses em que as hidras estavam mais resistentes aos efeitos do cloreto de sódio, enquanto que pontos abaixo da linha média indicam os meses em que esses animais estavam mais suscetíveis. Apesar de uma pequena variação, ambos os gráficos indicam que tanto para os efeitos subletais (CE_{50}) como para os efeitos letais (CL_{50}), a grande maioria dos valores estão próximos do valor médio e dentro dos limites do desvio padrão. Isso indica que os organismos estavam adequados para a realização dos testes ecotoxicológicos com as amostras de água das nascentes e, dessa forma, os resultados com as amostras apresentados adiante possuem consistência.

Em relação à análise ecotoxicológica das amostras de água das nascentes (teste de ecotoxicidade com *H. attenuata*), cujos resultados estão apresentados na Tabela 9, ficou evidente a presença de efeitos de toxicidade para esse animal (pelo menos em nível crônico) em quatro nascentes avaliadas (1, 2, 5 e 11) em, no mínimo, um teste. Toxicidade aguda (efeito letal) foi observada nas nascentes 1, 2 e 5. Talvez isso possa estar relacionado aos maiores valores de nitrato nessas nascentes, considerando que as hidras sejam sensíveis a essa substância. Pardos et al. (1999) mostraram uma correlação positiva entre a concentração de amônia e o grau de toxicidade para as hidras. Amônia é tóxica para quase todos os organismos vivos, sendo as plantas uma exceção.

O CE_{50} mais preocupante foi constatado na nascente 2, em julho (60,8%), o que classifica sua água como *tóxica*, de acordo com Arkhipchuk et al. (2006). Para as outras nascentes, os valores mais elevados de CE_{50} indicam apenas *indícios de toxicidade* (ver Tabela 9). Apenas a nascente 1 apresentou toxicidade crônica e/ou aguda em todas as avaliações realizadas. A nascente 5 apresentou toxicidade crônica e aguda em todas as avaliações, exceto em julho. As nascentes 2 e 11 apresentaram algum efeito tóxico para as hidras somente em julho e abril, respectivamente.

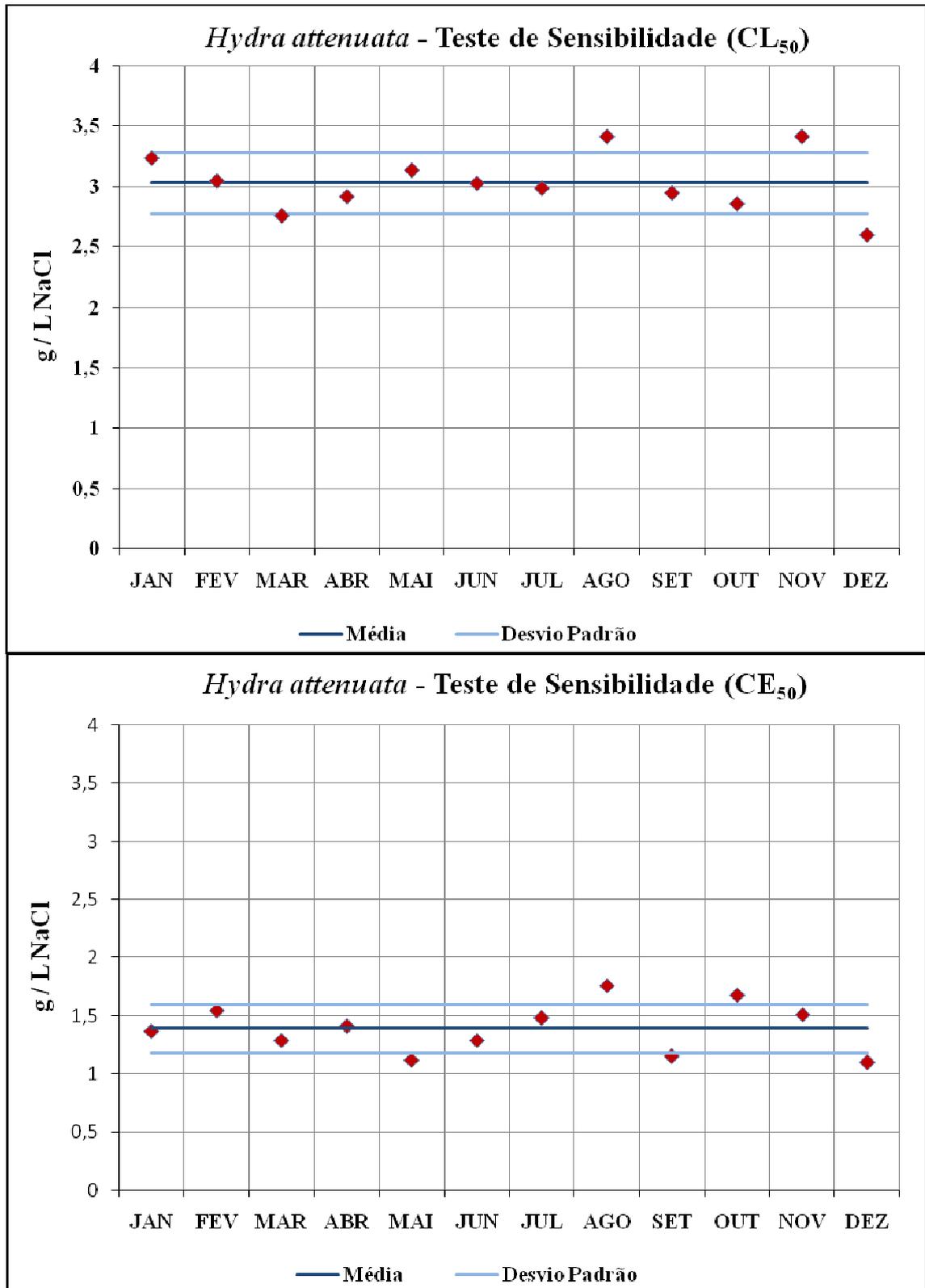


Figura 22 - Testes de sensibilidade das hidras ao cloreto de sódio, mostrando os valores mensais de CL₅₀ (acima) e CE₅₀ (abaixo). Ambos os gráficos contêm o valor médio e o desvio padrão

Tabela 9 - Toxicidade das amostras de águas das nascentes para *H. attenuata**

	JANEIRO	ABRIL	JULHO	OUTUBRO
N. 01	Toxicidade Crônica (indícios de toxicidade) ES=22,2% / CE ₅₀ =NC	Toxicidade Crônica (indícios de toxicidade) ES=13,9% / CE ₅₀ =NC	T. Crônica e Aguda (indícios de toxicidade) ES=19,4% / CE ₅₀ =91,7% EL=2,8% / CL ₅₀ =NC	T. Crônica e Aguda (indícios de toxicidade) ES=13,9% / CE ₅₀ =NC EL=2,8% / CL ₅₀ =NC
N. 02	Não Tóxico	Não Tóxico	T. Crônica e Aguda (tóxica) ES=47,2% / CE ₅₀ =60,8% EL=25,0% / CL ₅₀ =86,6%	Não Tóxico
N. 03	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico
N. 04	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico
N. 05	T. Crônica e Aguda (indícios de toxicidade) ES=22,2% / CE ₅₀ =NC EL=5,6% / CL ₅₀ =NC	T. Crônica e Aguda (indícios de toxicidade) ES=16,7% / CE ₅₀ =NC EL=2,8% / CL ₅₀ =NC	Não Tóxico	T. Crônica e Aguda (indícios de toxicidade) ES=11,1% / CE ₅₀ =NC EL=5,6% / CL ₅₀ =NC
N. 10	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico
N. 11	Não Tóxico	Toxicidade Crônica (indícios de toxicidade) ES=27,8% / CE ₅₀ =83,3%	Não Tóxico	Não Tóxico
N. 17	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico

NC: amostras nas quais não foi possível calcular os valores de CE₅₀ e/ou CL₅₀

ES: Porcentagem de hidras que apresentaram efeitos subletais no ensaio

EL: Porcentagem de hidras que apresentaram efeitos letais no ensaio

* Resultados baseados na classificação de Arkhipchuk et al. (2006)

4.4 Análise Estatística Multivariada

Através da Análise de Agrupamentos Hierárquicos foi possível a construção de um dendograma com a distância euclidiana relacionando todos os dados físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos simultaneamente, considerando 32 amostras (8 nascentes x 4 períodos de avaliação) (Figura 23). Quanto mais similares duas amostras entre si, menor é a distância euclidiana entre elas. Essa distância é medida a partir do valor zero no eixo X até o ponto em que há uma bifurcação que separa estas duas amostras. Por exemplo, as amostras N2jan e N2abr foram as mais similares entre si de todo conjunto analisado. Além disso, ficou evidente a formação de um grupo bastante similar que englobou todas as amostras da nascente 2 (N2jan, N2abr, N2jul e N2out) e as amostras N3abr e N4abr, com uma distância aproximada de 100. Portanto, a nascente 2 teve uma variação pequena em relação aos parâmetros avaliados nesses quatro períodos.

A formação de dois grupos mais abrangentes A e B (ver Figura 23) baseou-se no NMP/100 ml de água para coliformes totais. O grupo A representa as amostras de águas das nascentes que tiveram valores desse parâmetro ≥ 900 , enquanto que o grupo B valores < 900 . As nascentes 1, 5, 10 e 17 tiveram amostras enquadradas tanto no grupo A como no B, indicando variação significativa no número de coliformes totais entre os períodos avaliados. As demais nascentes tiveram todas suas amostras no grupo B.

Através dessa análise estatística notou-se que os parâmetros mensurados foram bastante variáveis entre as distintas nascentes e entre os diferentes períodos de análise (janeiro, abril, julho e outubro de 2010), considerando-se o agrupamento aleatório das amostras observado no dendograma, com exceção da nascente 2 formando um grupo bem definido, o que está relacionado à relativa estabilidade de suas características físicas, químicas e biológicas.

A Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nos dados físicos, químicos e biológicos, revelou um padrão similar de agrupamento das amostras, além de discriminar quais variáveis (parâmetros) foram mais significativas na distribuição dos dados e de que modo eles se correlacionaram (Figura 24). As variáveis que mais influenciaram a distribuição das amostras no gráfico foram coliformes totais (NMP/100mL), bactérias heterotróficas (UFC/mL), *E. coli* (NMP/100mL), turbidez (uT) e oxigênio consumido ($\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$). Os eixos 1 e 2 apresentaram valores de explicabilidade de 76,6% e 8,6% respectivamente.

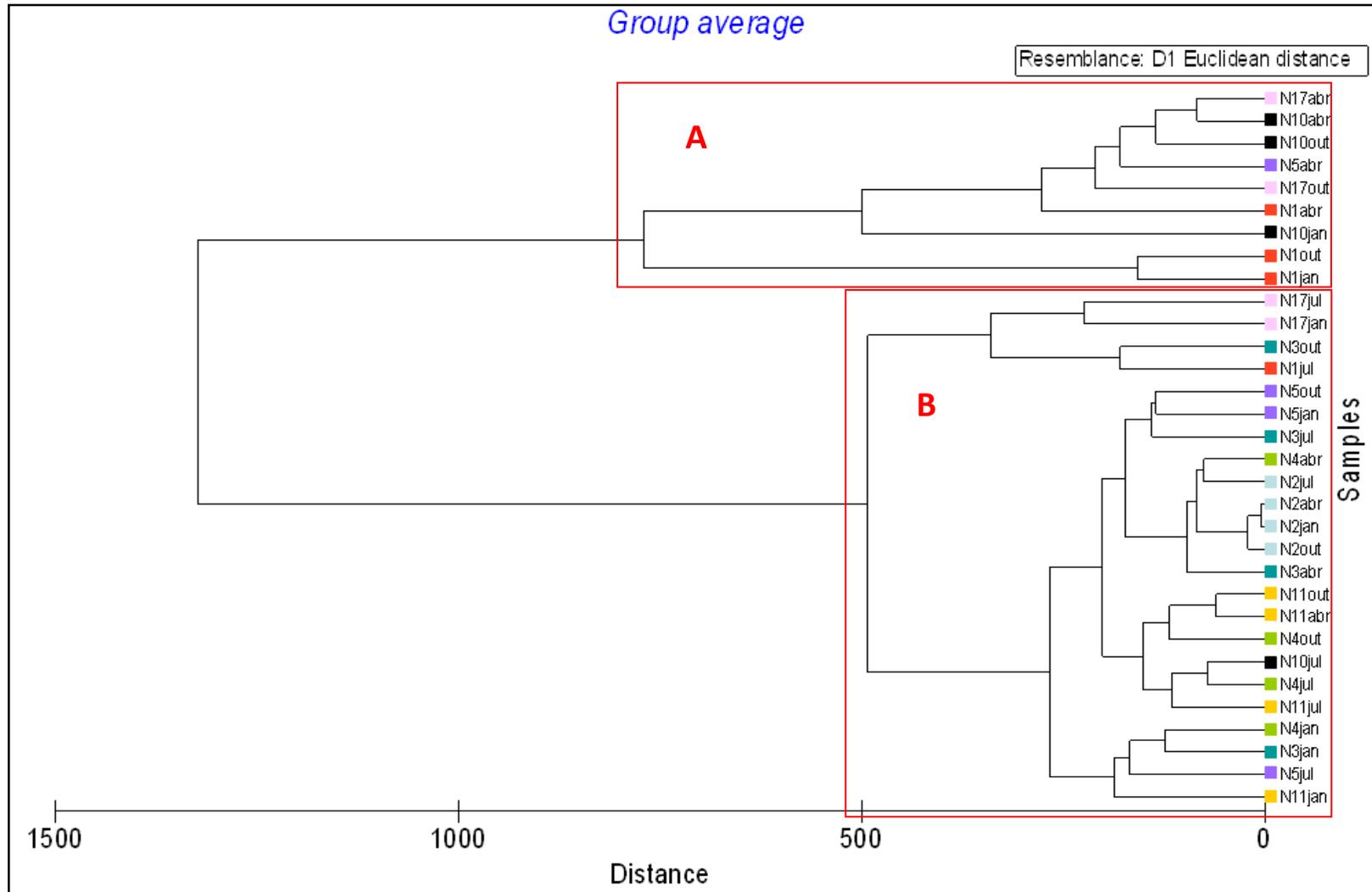


Figura 23 - Análise de Agrupamentos Hierárquicos baseada nos dados físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos das oito nascentes nos quatro períodos de avaliação (janeiro, abril, julho e outubro de 2010). O dendrograma foi construído pela distância euclidiana

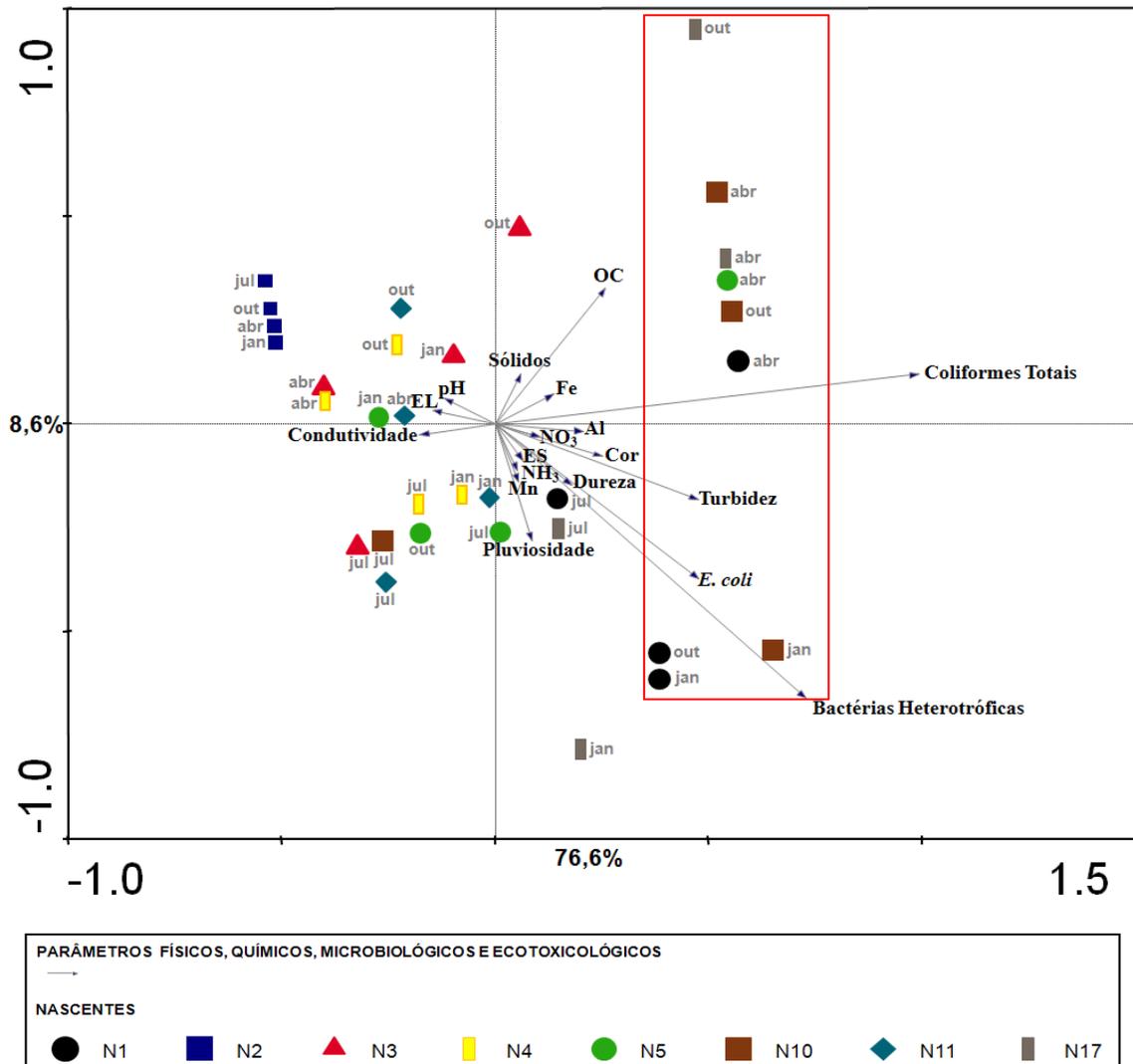


Figura 24 - Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nos dados físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos das oito nascentes nos quatro períodos de avaliação (janeiro, abril, julho e outubro de 2010). Os eixos 1 e 2 apresentaram valores de explicabilidade de 76,6% e 8,6% respectivamente. OC = oxigênio consumido; ES = porcentagem de hidras com efeito subletal; EL = porcentagem de hidras com efeito letal

Assim como na análise de agrupamentos hierárquicos, a PCA também agrupou as amostras da nascente 2 muito próximas entre si, reforçando a característica de estabilidade das variáveis dessa nascente. As nascentes 3 e 4 apresentaram pontos relativamente próximos entre si, fato que pode ser explicado por suas localizações geográficas, já que ambas estão situadas no mesmo bairro e possivelmente fazendo parte do mesmo lençol freático. A nascente 17 apresentou amostras distantes entre si no gráfico de PCA, o que indica grande variação dos parâmetros entre os períodos de avaliação.

As amostras delimitadas dentro do retângulo vermelho no gráfico de PCA (ver Figura 24) correspondem ao grupo A na análise de agrupamentos hierárquicos (ver Figura 23), as quais representam as nascentes com maior quantidade de coliformes totais em suas águas (NMP/100 mL \geq 900). Outra observação em destaque é que o NMP/100 mL de coliformes totais na água das nascentes teve correlação positiva significativa com os parâmetros turbidez, oxigênio consumido (OC), *E. coli* e bactérias heterotróficas.

Além disso, foi possível perceber uma correlação positiva entre a porcentagem de hidras que sofreram efeitos subletais no ensaio de ecotoxicidade (ES) com os teores de amônia, nitrato, alumínio, manganês e dureza. Apesar desses parâmetros químicos terem menor influência na distribuição dos pontos (amostras) na PCA do que, por exemplo, o número de coliformes totais (seta mais comprida), constatou-se que eles influenciaram no aparecimento de efeitos morfológicos para *H. attenuata*. Pelo menos para amônia já havia uma suspeita de toxicidade para as hidras, como indicado na literatura (PARDOS et al., 1999).

A porcentagem de hidras que sofreram efeitos letais no ensaio de ecotoxicidade (EL) teve correlação positiva maior com os parâmetros condutividade e pH. O aumento da condutividade elétrica da água implica em maior teor de compostos iônicos dissolvidos, alguns dos quais podem ser tóxicos para as hidras, embora não se saiba efetivamente qual deles é mais determinante na toxicidade.

O gráfico de PCA considerando todos os parâmetros avaliados simultaneamente (ver Figura 24) mostra uma relação improvável entre ES e EL, ou seja, uma correlação negativa entre estas variáveis. Para corrigir esta distorção foi realizada outra análise de componentes principais baseada somente em dados biológicos (Figura 25). Os eixos 1 e 2 apresentaram valores de explicabilidade de 41,6% e 35,6% respectivamente. Por essa nova análise ficou clara uma correlação positiva significativa entre efeitos subletais (ES) e letais (EL), já que ambas as setas correspondentes ficaram bastante próximas e apontando para a mesma direção. Todas as amostras que apresentaram efeitos subletais e/ou letais para as hidras ficaram situadas nos dois quadrantes superiores (esquerdo e direito), em concordância com as setas para efeitos subletais e letais. A PCA baseada somente nos dados biológicos (ver Figura 25) mostrou uma separação de um dos pontos da nascente 2, não observada nas análises anteriores que consideravam todos os parâmetros avaliados. Este ponto corresponde ao único período em que a água da nascente 2 determinou o aparecimento de efeitos subletais e letais para as hidras (julho).

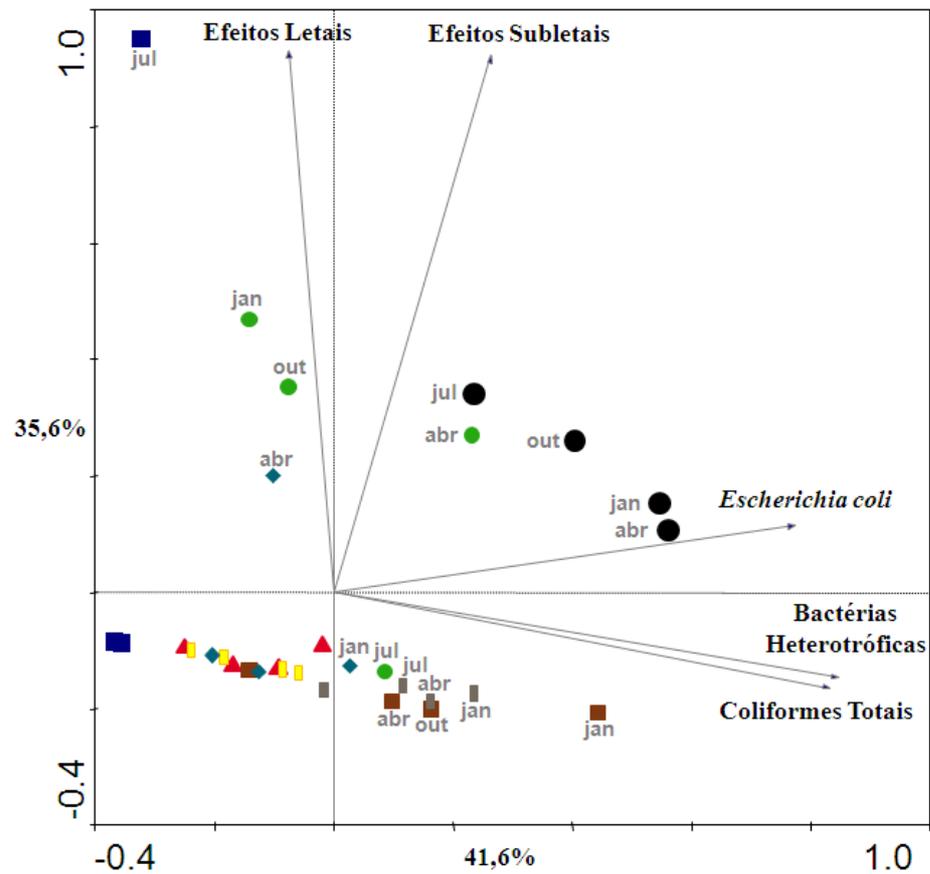


Figura 25 - Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nos dados microbiológicos e ecotoxicológicos das oito nascentes nos quatro períodos de avaliação (janeiro, abril, julho e outubro de 2010). Os eixos 1 e 2 apresentaram valores de explicabilidade de 41,6% e 35,6% respectivamente. Para uma maior clareza no gráfico, foram omitidos os períodos de avaliação no quadrante inferior esquerdo

5 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que as oito nascentes avaliadas em Piracicaba-SP possuem águas que estão fora dos padrões de aceitação para consumo humano estabelecidos por legislação em, no mínimo, um parâmetro mensurado. As nascentes estão localizadas em áreas densamente urbanizadas do município (exceto a 17), as quais sofrem interferência antropogênica acentuada, o que é determinante para influenciar a qualidade física, química e biológica dessas águas. Em relação à quantificação de elementos-traço e à maior parte dos testes físicos e químicos, não foram observados resultados em desacordo com o que estabelece a Portaria 518/MS (2004).

As análises estatísticas multivariadas demonstraram que as amostras de água das nascentes tiveram uma variabilidade considerável ao longo dos períodos em relação aos parâmetros avaliados simultaneamente, exceto a nascente 2. Na PCA baseada nos resultados de todas as análises, constatou-se uma influência significativa das variáveis coliformes totais, bactérias heterotróficas, *E. coli*, turbidez e oxigênio consumido na distribuição das amostras plotadas graficamente. No teste de ecotoxicidade com *H. attenuata* foi correlacionado a morte dos organismos com a alta condutividade e mudanças de pH, e os efeitos crônicos com a presença de amônia, nitrato, alumínio, manganês e dureza.

A nascente 1 apresentou contaminação por coliformes totais e *E. coli* em todas as avaliações mensais realizadas e nas avaliações quantitativas apresentou um valor médio para o NMP/100 mL de 975 (coliformes totais) e 127,5 (*E. coli*). Na contagem padrão de bactérias heterótrofas, o valor médio foi de 707,5 UFC/mL de água. Esses resultados indicam que esta nascente é a de pior qualidade, do ponto de vista microbiológico. Além disso, foram constatados valores acima do permitido para manganês (em três avaliações consecutivas) e nitrato (média de 10,1 mg L⁻¹). Esses dados indicam provavelmente que essa nascente sofre interferência de lixiviados do cemitério localizado a menos de um quilômetro de distância. Do ponto de vista ecotoxicológico, demonstrou-se toxicidade das amostras de água dessa nascente para *H. attenuata* nos quatro períodos avaliados.

A água da nascente 2 foi considerada a de melhor qualidade microbiológica, já que em nenhuma das análises foi detectada a presença de *E. coli* e, em apenas uma avaliação, foi constatada a presença de coliformes totais. Entretanto, essa nascente apresentou teores elevados de nitrato (média de 8,8 mg L⁻¹) e ferro (0,33 mg L⁻¹, na avaliação de abril). Toxicidade aguda e crônica foram observadas no teste de toxicidade com *H. attenuata* (julho),

tendo sido constatado o pior valor de CE_{50} entre todas as nascentes (60,8%), o que classifica sua água como tóxica.

A nascente 3 apresentou valores médios do NMP/100 mL para coliformes totais e *E.coli* de 194 e 13,5, respectivamente. A contagem padrão de bactérias heterotróficas teve como resultado médio 106,3 UFC/mL. Nenhum parâmetro físico e químico avaliado para a água desta nascente estava fora dos padrões da legislação. Em relação aos testes de ecotoxicidade com *H. attenuata*, não foi constatado toxicidade nos períodos analisados.

A nascente 4 apresentou valores médios do NMP/100 mL para coliformes totais e *E.coli* de 113,25 e 2, respectivamente. A contagem padrão de bactérias heterotróficas retornou um resultado médio de 72,4 UFC/mL. Assim como para a nascente 3, nenhum parâmetro físico e químico avaliado para a água da nascente 4 estava fora dos padrões da legislação. Em relação ao teste de ecotoxicidade com *H. attenuata*, também não foi constatado efeito tóxico para este animal. As nascentes 3 e 4 estão localizadas muito próximas entre si, o que pode explicar seus resultados semelhantes.

Para a nascente 5, a média para o NMP/100 mL para coliformes totais e *E.coli* 520 e 7,25, respectivamente. O valor para bactérias heterótrofas foi de 83,1 UFC/ml de água. Em três períodos de avaliação da água dessa nascente, constataram-se toxicidade crônica e aguda para as hidras. Em relação aos testes físicos e químicos, apenas o nitrato ultrapassou o VMP na avaliação de abril (10,96 mg L⁻¹), sendo seu valor médio de 7,4 mg L⁻¹. Foi possível perceber nítida relação entre a toxicidade das amostras de água das nascentes 1,2 e 5 (para *H. attenuata*) e seus respectivos teores elevados de nitrato.

A nascente 10 apresentou o maior valor médio entre todas as nascentes do índice NMP/100 mL para coliformes totais (1212,5). Para *E. coli* esse valor foi de 7,5. O valor para bactérias heterótrofas foi de 188,4 UFC/ml de água. Em relação aos testes físicos e químicos, apenas a cor e turbidez ultrapassaram seus respectivos VMPs na avaliação pontual de janeiro (16 mg L⁻¹ Pt-Co e 8 uT). Em relação aos testes de ecotoxicidade com *H. attenuata*, não foi constatado toxicidade nos períodos analisados.

A nascente 11 apresentou valores médios do NMP/100 mL para coliformes totais e *E.coli* de 147,5 e 6, respectivamente. A contagem padrão de bactérias heterotróficas teve um resultado médio de 62,6 UFC/mL. Nenhum parâmetro físico e químico avaliado para a água da nascente 11 estava fora dos padrões da legislação. Em relação ao teste de ecotoxicidade com *H. attenuata*, foi constatado efeito de toxicidade crônica para este animal no mês de abril ($CE_{50} = 83,3\%$).

A nascente 17 apresentou o segundo maior valor médio do NMP/100 mL para coliformes totais (1050). Para *E. coli* esse valor foi de 7. A contagem padrão demonstrou a maior média de todas as nascentes (1368,9 UFC/mL). A água dessa nascente não apresentou nenhum resultado fora dos padrões de potabilidade para as análises físicas e químicas e também não foi constatado toxicidade para as hidras.

Considerando a péssima qualidade da água das nascentes avaliadas, é importante que os órgãos responsáveis tomem medidas urgentes nessa importante questão de saúde pública. A interdição ou não das nascentes é algo bastante polêmico, devido à tradição do consumo das águas de bicas na cidade. O SEMAE e a Secretaria Municipal de Saúde fazem periodicamente campanhas educativas para conscientizar a população dos riscos à saúde associados à ingestão dessas águas, orientando as pessoas a substituírem essas fontes inadequadas pela água tratada e distribuída no município.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, W.J. Aquatic toxicology testing methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON JUNIOR, G.A.; CAIRNS, J.R. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis Publisher, 1995. p. 25-46.
- ALVES, N.C.; ODORIZZI A.C.; GOULART, F.C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 6, p. 749-751, 2002.
- AMARAL, L.A.; FILHO, N.A.; JUNIOR, O.D.R.; FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S.S. Águas de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water wastewater**. 21. ed. Washington: APHA, 2005.
- AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA. **Water quality and treatment: a handbook of community water supplies**. 4. ed. New York: McGraw Hill, 1990.
- ARKHIPCHUK, V.V.; BALISE, C.; MALINOVSKAYA, M.V. Use of hydra for chronic toxicity assessment of waters intended for human consumption. **Environmental Pollution**, London, v. 142, p. 200-211, 2006.
- BASTOS, R.K.X.; HELLER, L; FORMAGGIA, D.M.E. Revisão da Portaria nº 36 GM/90. Premissas e princípios norteadores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2001. 1 CD-ROM.
- BOUCHARD, D.C.; WILLIAMS, M.K.; SURAMPALLI, R.Y. Nitrate contamination of ground water: sources and potencial health effects. **Journal of the American Water Works Association**, Baltimore, v. 84, p. 85-90, 1992.
- BATISTA, D.A.G. **Avaliação da qualidade da água de nascentes (bicas) em Piracicaba (SP), quanto à presença de indicadores de contaminação fecal**. Piracicaba - São Paulo. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996. 86 p.
- BETTEGA, J.M.P.R.; MACHADO, M.R.; PRESIBELLA, M.; BANISKI, G.; BARBOSA, C.A. Métodos analíticos no controle microbiológico da água para o consumo humano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 950-954, 2006.
- BLAISE, C.; FÉRARD, J. F. (Ed.). **Small-scale freshwater toxicity investigations**. Toxicity test methods. Dordrecht: Springer Science, 2005. v. 1, 551 p.
- BLAISE, C.; GAGNE, F.; EULLAFFROY, P.; FERARD, J.F. Ecotoxicity of selected pharmaceuticals of urban origin discharged to the Saint-Lawrence River (Quebec, Canada): a review. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, Itajaí, v. 10, n.2, p. 29-51, 2007.

BLAISE, C.; KUSUI, T. Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate-based *Hydra attenuata* assay. **Environ. Toxicol. and Wat. Quality**, New York, v. 12, p. 53-60, 1997.

BONANCI, A.L.S. **Caracterização ambiental e estudo do comportamento do chumbo, zinco e boro em áreas degradadas por indústrias cerâmicas - Região dos lagos de Santa Gertrudes, SP**. 2001. 229 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 mar. 2004. Seção 1, p. 266.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boas práticas no abastecimento de água**: procedimentos para a minimização de riscos à saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 252 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Inspeção sanitária em abastecimento de água**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. 84 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006c. 212 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. **Limnologia fluvial**: um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RIMA, 2003. 278 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Análises microbiológicas da água**. São Paulo, 2002. 131 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Avaliação da qualidade das águas de São Paulo**. São Paulo: Diretoria de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia, 1995. 94 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Norma Técnica L5.136**. Determinação de nitrogênio amoniacal em águas: método da nesslerização com destilação prévia: método de ensaio. São Paulo: CETESB, 1978a. 13 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Norma Técnica L5.137**. : Determinação de nitrato em águas: método do ácido fenoldissulfônico: método de ensaio. São Paulo: CETESB, 1978b. 9 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Variáveis de qualidade das águas**. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/rios/variaveis.asp>. Acesso em: 03 dez. 2010.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução Nº 396 de 3 de abril de 2008. “Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências”. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 7 abr. 2008.

CPRM - Serviço Geológico do Brasil. **Projeto Araxá**: Estudo Geoambiental das Fontes Hidrominerais. São Paulo, 1999. 125 p.

DASTON, G.P.; GOOCH, J.W.; BRESLIN, W.J.; SHUEY, D.L.; NIKIFOROV, A.I.; FICO, T.A.; GORSUCH, J.W. Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data. **Reproductive Toxicology**, Elmsford, v. 11, n. 4, p. 465-481, 1997.

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

DUTKA, B. **Short-term root elongation toxicity bioassay**. Methods for toxicological analysis of waters, waste waters and sediments. Ottawa: National Water Research Institute, Environment Canada, 1989. (NWRI Publication, VIII/120-VIII/122).

FARIA, A. L. **Condições ambientais e características de potabilidade da água de bicas de uso público da cidade de Taubaté-SP**. 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade de Taubaté, Taubaté, 2006.

FENT, K.; WESTON, A.A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 76, p. 122-159, 2006.

FOSTER, S.; HIRATA, R. **Determinação do risco de contaminação das águas subterrâneas**. São Paulo: Instituto Geológico, 1993.

FREITAS, M.B.; BRILHANTE, O.M.; ALMEIDA, L.M. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 651-660, 2001.

GARBOGGINI, I.L.A. **Pesquisa de *Salmonella*, *Campylobacter*, coliformes totais e *Escherichia coli* em águas de nascentes (bicas) em Piracicaba-SP**. 1999. 89 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

GARDOLINSKI, P.C.F.C. **Extração seqüencial de metais em sedimentos e determinação por espectrometria de massas com fonte de plasma induzido (ICP-MS), utilizando o método de diluição isotópica**. 1998. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

GLEICK, P.H. **Water in crisis. A guide to the world's freshwater resources**. Oxford: Oxford University. Press, 1993. 473 p.

GOMES, A.H.; PACHECO, M.A.S.R.; FONSECA, Y.S.K.; CESAR, N.P.A.; DIAS, H.G.G.; da SILVA, R.P. Pesquisa de *Cryptosporidium sp.* em águas de fontes naturais e comparação

com análises bacteriológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 61, n. 1, p. 59-63, 2002.

GROSS, T.S.; ARNOLD, B.S.; SEPÚLVEDA, M.S.; McDONALD, K. **Endocrine disrupting chemicals and endocrine active agents**. In: HOOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON JUNIOR, G.A.; CAINNS JUNIOR, J. (Ed.). **Handbook of ecotoxicology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. (Versão eletrônica).

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 11, p. 714-719, 1977. Correction, v. 12, p. 417, 1978.

HOLDWAY, D.A.; LOK, K.; SEMAAN, M. The acute and chronic toxicity of cadmium and zinc of two *Hydra* species. **Environmental Toxicology**, New York, v. 16, p. 557-565, 2001.

JOBLING, S.; NOLAN, M.; TYLER, C.R.; BRIGHTY, G.; SUMPTER, J.P. Widespread sexual disruption in wild fish. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 32, p. 2498-2506, 1998.

KARNTANUT, W.; PASCOE, D. The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). **Chemosphere**, Oxford, v. 47, p. 1059-1064, 2002.

KHETAN, S.K.; COLLINS, T.J. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. **Chemical Reviews**, Washington, DC, v. 107, p.2319-2364, 2007.

LOPES, L.G.; MARCHI, M.R.R.; SOUZA, J.G.B.; MOURA, J.A.; LORENZON, C.S.; CRUZ, C.; AMARAL, L.A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboicabal - São Paulo. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 639-643, 2010.

MACÊDO, J.A.B. **Águas & águas**. São Paulo: Editora Varela, 2001.

MARMO, J.C.; JOLY, S. Águas das nascentes também oferecem perigo. **Coopercotia**, São Paulo, v. 19, n. 157, p. 48-49, 1962.

MASSARO, F.C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria Hydrozoa)**. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

MASTERS, B. Emerging contaminants - drugs on trap. **Water & Wastewater International**, Houston, v. 16, n. 4, p. 11-12, 2001.

MATO, A.P. **Determinação de nitratos, nitritos e prováveis fontes de contaminação em águas de poços e sua influência na metaemoglobinemia infantil**. 1996. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) - Universidade Mackenzie, São Paulo, 1996.

McGOVERN, P.; McDONALD, H.S. Endocrine disruptors. The next generation of regulatory concern? **Water Environment and Technology**, Alexandria, v. 15, p. 35-39, 2003.

MELLADO, P.H.G. **Qualidade e consumo das águas de nascentes (bicas) de Piracicaba-SP. Piracicaba-SP.** 2008. 48 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, Piracicaba, 2008.

MELLETI, P.C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba, SP, através de parâmetros ecotoxicológicos.** 1997. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MENDES, C.G.N. Tratamento de águas para consumo humano - Panorama mundial e ações do PROSAB. In: PÁDUA, V.L. (Coord.). **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano.** Rio de Janeiro: ABES. 2006. 504 p.

MENDES, J.C.T. **Caracterização fitogeográfica como subsídio para a recuperação e a conservação da vegetação na Bacia do Rio Corumbataí.** 2004. 121 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MESSIAS, T.G. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e Ribeirão Claro na bacia do Corumbataí.** 2008. 125 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MINERVINO, C.F. Mananciais - Proteção Legal. **Revista DAE**, São Paulo, v. 42, n. 130, p. 94-97, 1982.

OCHIAI, E.I. Toxicity of heavy metals and biological defense, principles and applications in bioinorganic chemistry. **Journal of Chemical Education**, Easton, v. 72, p. 479-483, 1995.

OLIVEIRA, L.I.; LOUREIRO, C.O. Contaminação de aquíferos por combustíveis orgânicos em Belo Horizonte: avaliação preliminar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS, 10., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo:ABAS, 2000. 1 CD-ROM.

OLMOS, R.P.; ECLEVENIA, J. Elementos traça en leches de lactamia españolas. III. Determinación de nitratos. **Alimentaria**, Madrid, v. 142, p. 51-57, 1983.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Nitratos, nitritos and N-nitroso compounds.** Geneva, 1978.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Guías para la calidad del agua potable.** Recomendaciones. 2. ed. Ginebra, 1995. v. 1, 195 p.

PACHURA-BOUCHET, S.; BLAISE, C.; VASSEUR, P. Toxicity of nonylphenol on the cnidarian *Hydra attenuata* and environmental risk assessment. **Environmental Toxicology**, New York, v. 21, p. 388-394, 2006.

PARDOS, M.; BENNINGHOFF, C.; GUEGUEN, C.; THOMAS, R.; DOBROWOLSKI, J.; DOMINIK, J. Acute toxicity assessment of Polish (waste) water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox test. **Science and the Total Environment**, Amsterdam, v. 243-244, p.141-148, 1999.

PASCOE, D.; CARROLL, K.; KARNTANUT, W.; WATTS, M.M. Toxicity of 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A to the freshwater Cnidarian *Hydra vulgaris*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 43, p. 56-63, 2002.

PASCOE, D.; KARNTANUT, W.; MULLER, C.T. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. **Chemosphere**, Oxford, v. 51, p. 521-528, 2003.

PIELOU, E.C. **Fresh water**. Chicago: The University of Chicago Press, 1998. 275 p.

PROBST, J.L.; SUCHET, A.P. Fluvial suspended sediment transport and mechanical erosion the Maghreb, North Africa. **Journal des Sciences Hidrologiques / Hydrological Sciences Journal**, Oxford, v.37, n. 6, p. 624-637, 1992.

QUINN, B.; GAGNÉ, F.; BLAISE, C. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 389, p. 306-314, 2008.

QUINN, B.; GAGNÉ, F.; BLAISE, C. Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, p. 1072-1079, 2009.

RADEMACHER, J.J.; YOUNG, T.B.; KANAREK, M.S. Gastric cancer mortality and nitrate levels in Wisconsin drinking water. **Archives of Environmental Health**, Chicago, v. 47, p. 292-294, 1992.

REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. (Org.). **Águas doces no Brasil**. São Paulo: Escrituras, 1999. 717 p.

RICHARDSON, S.D. Environmental mass spectrometry: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, Washington,DC, v. 76, p. 3337-3364, 2004.

RICHTER, C.A.; NETTO, A.J.M. **Tratamento de água: tecnologia atualizada**. São Paulo. Edgard Blucher, 1991. 332 p.

SANTOS, M.A.P.F.; VICENSOTTI, J.; MONTEIRO, R.T.R. Sensitivity of four test organisms (*Chironomus xanthus*, *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* and *Pseudokirchneriella subcapitata*) to NaCl: an alternative reference toxicant. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio Grande, v. 2, n. 3, p. 229-236, 2007.

SEILER, H.G.; SIGEL, H. **Handbook on toxicity of inorganic compounds**. New York: Marcel Dekker, 1998.

SELBORNE, L. **A ética do uso de água doce: um levantamento**. Brasília, DF: UNESCO, 2001. 80 p.

SERVIÇO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO DE PIRACICABA (SEMAE). **A água que você bebe**. Piracicaba, 2005. 10 p. (Cartilha educativa).

SHARPE, R.M.; SKAKKEBAEK, N.E. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? **The Lancet**, London, v. 341, p. 1392-1395, 1993.

SILVA, A.M.; SCHULZ, H.E.; CAMARGO, P.B. **Erosão e hidrossedimentologia em bacias hidrográficas**. São Carlos: Rima, 2003. 138 p.

SILVA, E.S. Zinco. In: AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. (Ed.). **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Editora Ateneu, 2003. cap.7, p. 187-201.

SILVA, R.C.A.; ARAÚJO, T.M. Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana-BA. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 4, p. 1019-1028, 2003.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. Avaliação de Exposição de populações Humanas a Metais Pesados no Ambientes: Exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 147-155, 1992.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 830 p.

TROTTIER, S.; BLAISE, C.; KUSUI, T; JOHNSON, E.M. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 12, p. 265-271, 1997.

TUNDISI, J.G. **Água no século XXI: enfrentando a escassez**. 2. ed. São Carlos: RiMa, IIE, 2005. 248 p.

TUNDISI, J.G. **Limnologia do século XXI: perspectivas e desafios**. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, IIE, 1999. 24 p.

TUNDISI, J.G. Limnologia e gerenciamento integrado de recursos hídricos. Avanços conceituais e metodológicos. **Ciência e Ambiente**, Santa Maria, v. 21, p. 9-20, 2001.

VALENTE, J.P.S.; PADILHA, P.M.; SILVA, A.M.M. Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu - SP. **Eclética Química**, Marília, v.22, p. 49-66, 1997.

VERTONI, P.C.; GALLO, C.R. **Utilização de cloradores por difusão em poços rasos: cisternas para garantia da potabilidade da água**. Piracicaba: ESALQ, SEBRAE, 1994. 66 p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking water quality**. 3. ed. Geneva: WHO, 2004.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**. Princípios e aplicações. São Carlos: RiMa, 2006. 464 p.

ANEXO

Anexo I - Índice de NMP e limites de confiança 95% quando são utilizados inóculos de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL em séries de 5 tubos

Número de tubos com reação positiva quando são utilizadas, em séries de 5 tubos, inóculos de:			Índice de NMP/100 mL	Limites de confiança de 95%	
10 mL	1 mL	0,1 mL		Inferior	Superior
0	0	0	<2	-	-
0	0	1	2	1	10
0	1	0	2	1	10
0	2	0	4	1	13
1	0	0	2	1	11
1	0	1	4	1	15
1	1	0	4	1	15
1	1	1	6	2	18
1	2	0	6	2	18
2	0	0	4	1	17
2	0	1	7	2	20
2	1	0	7	2	21
2	1	1	9	3	24
2	2	0	9	3	25
2	3	0	12	5	29
3	0	0	8	3	24
3	0	1	11	4	29
3	1	0	11	4	29
3	1	1	14	6	35
3	2	0	14	6	35
3	2	1	17	7	40
4	0	0	13	5	38
4	0	1	17	7	45
4	1	0	17	7	46
4	1	1	21	9	55
4	1	2	26	12	63
4	2	0	22	9	56
4	2	1	26	12	65
4	3	0	27	12	67
4	3	1	33	15	77
4	4	0	34	16	80
5	0	0	23	9	86
5	0	1	30	10	110
5	0	2	40	20	140
5	1	0	30	10	120
5	1	1	50	20	150
5	1	2	60	30	180
5	2	0	50	20	170
5	2	1	70	30	210
5	2	2	90	40	250
5	3	0	80	30	250
5	3	1	110	40	300
5	3	2	140	60	360
5	3	3	170	80	410
5	4	0	130	50	390
5	4	1	170	70	480
5	4	2	220	100	580
5	4	3	280	120	690
5	4	4	350	160	820
5	5	0	240	100	940
5	5	1	300	100	1300
5	5	2	500	200	2000
5	5	3	900	300	2900
5	5	4	1600	600	5300
5	5	5	≥ 1600	-	-