

## MARCADORES ORGÂNICOS DE CONTAMINAÇÃO POR ESGOTOS SANITÁRIOS EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA BAÍA DE SANTOS, SÃO PAULO

César de Castro Martins\*

Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, CP 50.002, 83255-000 Pontal do Paraná – PR, Brasil

Fernanda Boechat Azeredo Gomes, Juliana Aureliano Ferreira e Rosalinda Carmela Montone

Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, Praça do Oceanográfico, 191, 05508-900 São Paulo – SP, Brasil

Recebido em 26/2/07; aceito em 26/10/07; publicado na web em 27/6/08

### ORGANIC MARKERS OF SEWAGE CONTAMINATION IN SURFACE SEDIMENTS FROM SANTOS BAY, SÃO PAULO.

Organic markers, such as sterols and ketones, were used to assess sewage contamination in sediments from the Santos Bay, SP, and its continental shelf. These compounds were analyzed by GC/FID after soxhlet extraction, clean up and derivatization. The concentration of coprostanol and ratios between selected sterols were used to evaluate fecal contamination. The stations located in the mid-western part of the Santos Bay presented organic matter from sewage due to the input of fecal material from the city of Santos by submarine sewage outfall. Stations located at the continental shelf did not present fecal contamination. Coprostanol levels in sewage outfall stations were higher in comparison to other Brazilian coastal areas, except Guanabara Bay/RJ, and could be related to the fraction of the population without sewage treatment.

Keywords: fecal sterols; sediments; Santos Bay.

## INTRODUÇÃO

O lançamento de esgotos sanitários é uma das formas mais comuns de poluição das áreas costeiras, seja por meio de contribuições difusas de cursos d'água, ou por meio de emissários submarinos, entre outros. Os impactos ambientais gerados pelo lançamento desses efluentes são, por exemplo, a contaminação microbiológica, a alteração da biodiversidade, o acréscimo de matéria orgânica no meio marinho e o enriquecimento por nutrientes, podendo causar eutrofização e a deposição de resíduos sólidos nos sedimentos marinhos.<sup>1</sup>

A detecção da contaminação por esgotos no ambiente marinho é de considerável importância principalmente por questões de saúde pública. Uma das formas de determinação é através dos marcadores químicos de contaminação fecal, que aparecem como alternativa em relação aos métodos microbiológicos mais comumente utilizados, pois são menos susceptíveis às mudanças ambientais que as bactérias.<sup>2</sup>

Os compostos da classe dos esteróis e estanonas são os marcadores químicos mais utilizados em estudos sobre o aporte de esgotos, devido à especificidade com material fecal de origem humana.<sup>3-5</sup> Na Figura 1, são mostrados estrutura química, nome oficial e usual de alguns esteróis e estanonas empregados no estudo da contaminação ambiental por esgotos.

A maioria dos esteróis é pouco solúvel em água associando-se ao material particulado ou acumulando-se nos resíduos sólidos, como os sedimentos marinhos. A resistência à degradação anaeróbica possibilita o acúmulo e preservação de esteróis em sedimentos, o que viabiliza sua determinação.<sup>6</sup>

Os sedimentos não-contaminados por esgoto podem apresentar os seguintes esteróis naturais: dinosterol, colesterol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol, colestanol, entre outros. Os sedimentos contaminados por esgoto apresentam todos estes, exceto dinosterol, além de apresentar coprostanol e epicoprostanol.<sup>7</sup>

Coprostanol e epicoprostanol, denominados esteróis fecais, são os esteróis mais citados em estudos de determinação da contaminação

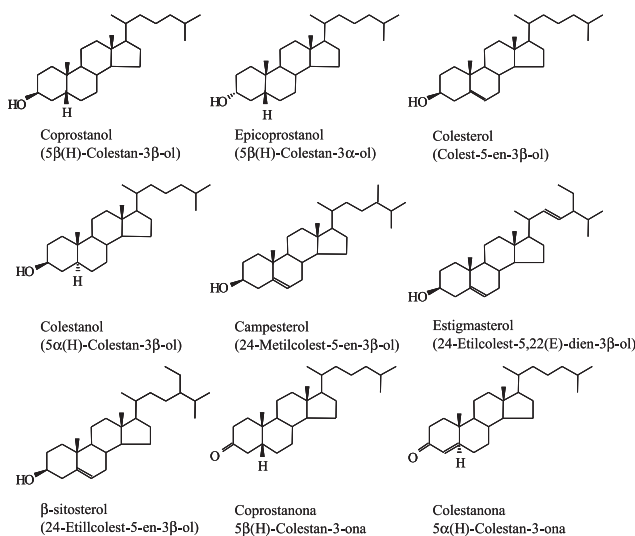


Figura 1. Estrutura química de esteróis e estanonas estudados neste trabalho

por esgotos, visto que não são naturais dos sedimentos marinhos e estão diretamente associados ao material fecal.<sup>3,5,8,9</sup>

O coprostanol é um esterol fecal gerado através da ação microbiana sobre o colesterol, sendo citado como indicador químico de contaminação fecal, devido à sua presença nas fezes de animais superiores, em particular, o homem.<sup>3,10</sup> O epicoprostanol é um esterol fecal, epímero do coprostanol, não estando presente de forma significativa nas fezes humanas.<sup>10</sup> Pode surgir a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de esgotos.<sup>4</sup> A presença de traços de epicoprostanol, desde que haja concentrações altas de coprostanol, sugere uma possível contaminação dos sedimentos por esgoto.<sup>11</sup>

A cetona coprostanona também é um indicador de contaminação fecal, pois é resultante da biotransformação do colesterol que gera o coprostanol.<sup>12</sup>

O colesterol é o principal produto de excreção dos animais superi-

\*e-mail: ccmart@ufpr.br

ores. Chegando ao intestino, o colesterol é convertido em colestanol e em maior quantidade, coprostanol, através de redução bacteriana que promove a hidrogenação direta do colesterol.<sup>3</sup>

Quéméneur e Marty<sup>13</sup> estudaram a composição lipídica dos efluentes domésticos e observaram a presença de campesterol e do  $\beta$ -sitosterol, esteróis presentes em óleos vegetais de uso doméstico.

O colesterol, assim como colestanol, campesterol e  $\beta$ -sitosterol são esteróis que embora estejam presentes nos efluentes domésticos, não podem ser utilizados como indicadores diretos de contaminação por esgotos, pois podem estar associados a fontes naturais de matéria orgânica de origem marinha ou terrígena.

Na composição do plâncton, observam-se os esteróis  $C_{27}$  e  $C_{28}$  como os mais abundantes. Em fezes de fito e zooplâncton os esteróis  $C_{27}$  são predominantes, particularmente o colesterol.<sup>14</sup> Esteróis  $C_{29}$  como  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol e, ainda, campesterol, são os principais constituintes de plantas superiores, ou seja, matéria orgânica de origem continental. Porém, também ocorrem em organismos marinhos como cianobactérias e primnesiofitas.<sup>14</sup>

Apesar da multiplicidade de fontes nas quais alguns dos esteróis estudados estão sujeitos, o emprego destes compostos no estudo da contaminação por esgotos é viável, quando diretamente associados aos esteróis fecais através de razões entre as concentrações de diferentes compostos.

A aplicação dos esteróis, como indicadores de contaminação fecal, é particularmente aplicável a regiões próximas a centros populacionais e industriais, onde é possível identificar fontes de descarga de efluentes, na maioria das vezes tratados apenas primariamente.<sup>15</sup>

O objetivo deste trabalho foi analisar a contribuição e a extensão alcançada pelo esgoto descartado na Baía de Santos, SP, através da análise de marcadores químicos específicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais. Com isso, pretende-se avaliar a distribuição espacial de esteróis fecais, enfocando uma região costeira do litoral brasileiro caracterizada por diversificada atividade humana.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Área de estudo

A área de estudo corresponde à Baía de Santos e à Plataforma Continental Adjacente, localizadas na porção central do litoral do estado de São Paulo, entre as latitudes de 23°90'S e 24°00'S e as longitudes de 46°30'W e 46°50'W (Figura 1S, do Material Suplementar).

Santos é o maior e mais populoso município litorâneo do estado de São Paulo, localizado na região denominada Baixada Santista. Com uma população de aproximadamente 412 mil habitantes, possui infraestrutura de serviços e potencial turístico podendo atender até 300 mil turistas nas temporadas de verão.<sup>16,17</sup>

Os efluentes domésticos são coletados e encaminhados para uma estação de pré-condicionamento. O tratamento desses esgotos consiste em gradeamento em barras de 10 e 4 cm, peneiramento (peneiras rotativas de 1,5 mm de malha), remoção de particulados e sistema de dupla cloração.<sup>18</sup> O efluente resultante do tratamento é encaminhado para disposição final na Baía de Santos, via emissário submarino, na Praia José Menino. Este emissário entrou em operação em 1979 e tem saída a 4 km da costa, na porção central Baía de Santos.<sup>16</sup>

Ainda, uma grande carga de esgotos *in natura* chega ao estuário, proveniente de ocupações existentes nas margens e de ligações clandestinas, além do descarte das docas e navios que operam no Porto de Santos, podendo alcançar a Baía de Santos.<sup>18</sup>

Na junção entre o Estuário de Santos e São Vicente e a Baía de Santos, onde elevadas concentrações de hidrocarbonetos,<sup>19,20</sup> alquilbenzenos lineares<sup>21</sup> (utilizados como marcadores químicos da introdução de efluentes

domésticos) e metais pesados<sup>22,23</sup> foram detectadas, há a necessidade de um acompanhamento da qualidade ambiental dos sedimentos desta região, já que não apenas o emissário submarino, mas também a estrutura industrial e ocupacional do estuário santista pode contribuir para a introdução de contaminantes para a Baía de Santos.

Em março de 2005, foram amostrados 8 pontos no interior da Baía de Santos. Destes, 3 tiveram posicionamentos estratégicos a fim de avaliar contribuições pontuais de esgotos (B5 – na saída do emissário submarino e B7 e B8 nas desembocaduras dos canais do Porto e São Vicente, respectivamente). Para complementar o estudo da dispersão do esgoto na região, 4 pontos foram amostrados, em julho de 2005, na Plataforma Continental Adjacente (Figura 1S).

Cerca de 200 g de sedimento superficial foram coletados em cada ponto utilizando um pegador de fundo de aço inox do tipo Van Veen, de 0,05 m<sup>2</sup> de área amostral. As amostras foram acondicionadas em bandejas de alumínio, previamente mufladas a 400 °C por 4 h e congeladas até o início do tratamento prévio.

### Procedimento analítico

Para a análise de cada amostra, partiu-se de 20,00 g de sedimento seco que foi extraído em Soxhlet com 70 mL de etanol (Merck p.a). Utilizou-se 5 $\alpha$ -androstanol (Supelco) como padrão *surrogate* e 5 $\alpha$ -colestano (Supelco) como padrão interno, utilizado no cálculo da recuperação do *surrogate*. O extrato resultante foi concentrado num evaporador rotativo a vácuo, sendo submetido à cromatografia de adsorção em uma coluna contendo 2,0 g de alumina (5% desativada) e sulfato de sódio. Eluiu-se a coluna com 10 mL de etanol, recolhendo-se uma única fração.<sup>24</sup>

Os extratos resultantes foram levados até a secura. Ao resíduo foi adicionado N, O-bis (trimetil-silil-trifluor-acetamida)/trimetil-cloro-silano (BSTFA/TMCS – 99:1) (Supelco) e deixados em banho-maria (65 °C) por 90 min para a reação de derivação, onde os esteróis são convertidos em derivados trimetil-silícicos, que são suficientemente voláteis para atravessarem as colunas cromatográficas e fornecerem um sinal intenso no espectro de massas devido à quebra da ligação Si – CH<sub>3</sub> (Figura 2).<sup>24</sup>

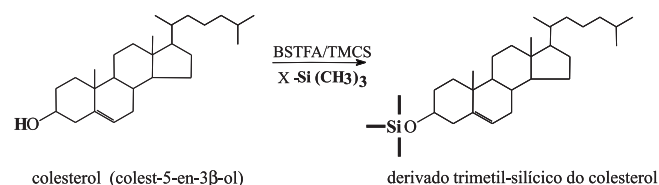


Figura 2. Exemplo da reação de derivação para esteróis

A mistura dos esteróis na forma de derivados trimetil-silícicos foi resolvida através da injeção (*splitless*) de 2  $\mu$ L da amostra em um cromatógrafo a gás Hewlett Packard (HP), modelo 5890 II, equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID) e uma coluna capilar Ultra 2 da HP, com 50 m de comprimento, 0,17 mm de espessura do filme, 0,32 mm de diâmetro interno e fase estacionária de 5% fenil-metil-silicona, com a seguinte razão de aquecimento: 40 - 240 °C a 20 °C min<sup>-1</sup>; 240 - 255 °C a 0,25 °C min<sup>-1</sup>; isotérmico a 255 °C por 10 min; 255 - 300 °C a 20 °C min<sup>-1</sup> e, isotérmico a 300 °C por 5 min.

Os compostos foram identificados através de uma solução de padrões de esteróis e estanonas contendo os compostos estudados. O programa HP Enhanced Chemstation G1701 CA foi utilizado na quantificação das amostras, feita através da comparação dos fatores de resposta entre cada composto e padrão *surrogate* obtidos na amostra, e aquele gerado na curva de calibração. A calibração para cada analito foi feita utilizando soluções padrão de esteróis e estanonas (Sigma) na forma derivada, em intervalo de concentração entre 0,25 a 10,0 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> e a resposta linear foi superior a 0,995.

O método analítico foi avaliado através do branco de extração, que não apresentou interferentes nos tempos de retenção dos compostos analisados; da recuperação do padrão *surrogate*, variando entre 54,7 e 137,9% e, da recuperação de padrões externos adicionados em matrizes reais, entre 55,9 e 134,6%. Os valores de recuperação estiveram entre 40 e 140%, ou seja, são aceitáveis segundo Qian e Jackson.<sup>25</sup>

O limite de detecção (LD), definido como três vezes o desvio padrão do sinal no mesmo tempo de retenção dos compostos analisados no branco foi de 10 ng g<sup>-1</sup> para todos os esteróis e estanoas estudados.<sup>26</sup>

Com relação à análise granulométrica, obteve-se o teor de lama (% silte + argila) segundo o método de peneiramento e pipetagem.<sup>27</sup> Para a determinação do teor de matéria orgânica, cerca de 2,00 g de sedimento úmido foram secos em estufa (60 °C/48 h) e calcinados em mufla (480 – 500 °C/2 h).<sup>28</sup>

Com o objetivo de ordenar as estações de coleta em função das variáveis ambientais, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP). A disposição das amostras em relação a um conjunto de eixos possibilita a diferenciação, isto é, quanto maior for a distância entre elas no plano de ordenação, maior será a diferença entre as amostras.<sup>29</sup>

Os dados foram previamente estandardizados (centrados e reduzidos), e isso se faz necessário uma vez que as variáveis ambientais possuem distintas unidades e, portanto, diferentes intervalos de variação. O método de análise de ordenação empregado foi realizado através do pacote estatístico Primer 5.0.<sup>30</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização geral das estações

As concentrações individuais de esteróis e estanoas, assim como os teores de silte + argila e matéria orgânica, encontrados através da análise de sedimentos são mostradas na Tabela 1.

Em geral, os maiores valores de concentração dos esteróis totais ocorreram nas estações B4, B2 e B5, onde também foram verificados os maiores valores nos teores de matéria orgânica e silte + argila.

Coprostanol foi o esteroide predominante apenas na estação imediatamente após o emissário submarino de Santos (B5). Nos demais pontos, os esteróis predominantes foram: colesterol (B3, B7, P1 e P2),  $\beta$ -sitosterol (B1, B4, B6, B8, P3 e P4) e estigmasterol (B2).

O predomínio de esteróis C<sub>29</sub>, como  $\beta$ -sitosterol, em 50% das estações estudadas poderia sugerir um importante aporte de material terrígeno para a Baía de Santos e Plataforma Continental, visto que este composto é associado com matéria orgânica de origem continental.<sup>14</sup> Porém, os baixos valores encontrados para a razão campesterol: $\beta$ -sitosterol (1,0 : [0,9 – 3,2]) indicam origem predominante autóctone deste esteroide, visto que sedimentos sujeitos a intensa contribuição terrígena apresentam valores mais elevados para esta razão (1,0:6,6).<sup>31</sup>

Fontes terrígenas de campesterol e estigmasterol devem ser consideradas já que o cálculo da razão campesterol:estigmasterol mostrou valores característicos de sedimentos sujeitos ao aporte de material terrígeno (1,0:[1,3 – 2,3]).<sup>31</sup>

A análise da correlação de Pearson ( $r$ ;  $p < 0,05$ ) envolvendo todos os parâmetros analisados mostra uma alta correlação positiva entre os esteróis e estanoas (Tabela 2), indicando que as fontes destes compostos são coincidentes, ou seja, nas estações sujeitas à contribuição de material fecal, esteróis como colesterol,  $\beta$ -sitosterol e colestanol que possuem assinatura típica de origem natural marinha, terrígena e diagenética, respectivamente, podem ser associados aos esgotos domésticos.

A ausência de forte correlação entre % lama e esteróis fecais, como coprostanol e epicoprostanol, sugere que o tamanho dos grãos que compõem os sedimentos das estações não consistiu, de forma geral, um fator preponderante para o acúmulo destes compostos.

Também não houve correlação significativa entre matéria orgânica e a maioria dos esteróis, o que pode ser explicado pela multiplicidade de fontes (marinha, terrígena e antrópica) que ocorrem na Baía de Santos e Plataforma Continental. Ainda, o método utilizado para determinação da matéria orgânica neste trabalho está sujeito a certa imprecisão, de modo que os resultados obtidos devem ser tratados com cautela e confirmados por outras análises como, por exemplo, a determinação de carbono orgânico.

Uma análise de componentes principais foi realizada integrando-se todos os parâmetros estudados como esteróis, estanoas, teores de argila + silte e o conteúdo de matéria orgânica. A Figura 3 mostra o plano cartesiano obtido, mostrados em dois gráficos onde a variação da concentração de coprostanol (Figura 3a) e % de silte + argila (Figura 3b) está representada de acordo com a dimensão do círculo presente em cada amostra.

**Tabela 1.** Concentração de esteróis e estanoas, em  $\mu\text{g g}^{-1}$  sedimento seco, porcentagem de silte e argila e matéria orgânica para sedimentos superficiais coletados na Baía de Santos (B1 a B8) e Plataforma Continental (P1 a P4)

esteróis e estanoas analisadas	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	P1	P2	P3	P4
coprostanol	0,04	0,57	0,05	0,91	8,51	0,23	0,11	0,16	<LD	<LD	<LD	<LD
epicoprostanol	<LD	0,10	<LD	0,08	0,51	0,02	<LD	<LD	0,03	<LD	<LD	<LD
colesterol	0,05	1,05	0,18	2,21	3,35	0,40	0,38	0,29	0,33	0,31	0,28	0,26
colestanol	0,03	0,51	0,07	0,85	2,57	0,25	0,11	0,14	0,08	0,09	0,10	0,08
campesterol	0,04	1,19	0,06	1,41	3,84	0,16	0,11	0,15	0,10	0,11	0,14	0,10
estigmasterol	0,09	2,54	0,09	1,39	1,79	0,36	0,15	0,23	0,16	0,18	0,22	0,13
$\beta$ -sitosterol	0,10	1,30	0,15	2,63	3,38	0,51	0,27	0,37	0,27	0,30	0,32	0,28
esteróis totais ( $\Sigma$ -OLs)	0,35	7,26	0,60	9,48	23,9	1,93	1,13	1,34	0,97	0,99	1,06	0,85
coprostanona	0,03	1,17	0,03	0,25	1,14	0,07	0,04	0,04	<LD	<LD	<LD	<LD
colestanona	0,03	0,83	<LD	0,21	0,77	0,05	<LD	0,06	0,06	0,07	0,06	0,09
granulometria e matéria orgânica												
% silte e argila	0,65	86,5	0,27	18,5	47,2	18,5	0,00	0,27	5,53	6,52	0,00	6,64
% material orgânica	1,35	14,2	1,43	4,95	6,80	2,19	2,32	1,58	0,95	0,91	0,09	1,09

< LD: concentração abaixo do limite de detecção do método (< 10,0 ng g<sup>-1</sup> sed. seco).

**Tabela 2.** Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de esteróis e estanonas, porcentagem de silte e argila (% lama) e matéria orgânica (M.O) nas amostras de sedimentos superficiais analisadas neste trabalho (n = 12)

	% lama	M.O	cop	epi	col-e	col-a	camp	estig	$\beta$ -sito	cop-ona	col-ona
% lama	x										
M.O	<u>0,97</u>	x									
cop	<i>0,44</i>	<i>0,36</i>	x								
epi	<i>0,55</i>	<i>0,48</i>	<u>0,99</u>	x							
col-e	<i>0,55</i>	<i>0,53</i>	<u>0,87</u>	<u>0,90</u>	x						
col-a	<i>0,53</i>	<i>0,48</i>	<u>0,98</u>	<u>0,98</u>	<u>0,96</u>	x					
camp	<u>0,62</u>	<i>0,57</i>	<u>0,95</u>	<u>0,98</u>	<u>0,97</u>	<u>0,99</u>	x				
estig	<u>0,94</u>	<u>0,95</u>	<u>0,53</u>	<u>0,64</u>	<u>0,73</u>	<u>0,66</u>	<u>0,75</u>	x			
$\beta$ -sito	<i>0,58</i>	<i>0,57</i>	<u>0,82</u>	<u>0,86</u>	<u>0,99</u>	<u>0,92</u>	<u>0,94</u>	<u>0,77</u>	x		
cop-ona	<u>0,93</u>	<u>0,91</u>	<u>0,70</u>	<u>0,79</u>	<u>0,74</u>	<u>0,76</u>	<u>0,83</u>	<u>0,94</u>	<u>0,74</u>	x	
col-ona	<u>0,94</u>	<u>0,90</u>	<u>0,68</u>	<u>0,77</u>	<u>0,73</u>	<u>0,74</u>	<u>0,81</u>	<u>0,94</u>	<u>0,73</u>	<u>0,99</u>	x

Valores sublinhados: correlação significativa ( $p < 0,05$ ); valores em itálico: correlação não significativa ( $p > 0,05$ ); siglas - cop: coprostanol; epi: epicoprostanol; col-e: colesterol; col-a: colestanol; camp: campesterol; stig: estigmasterol;  $\beta$ -sito:  $\beta$ -sitosterol; cop-ona: coprostanona; col-ona: colestanonas.

O eixo PC1 contribui com 80,2% do total da variância entre as estações. O eixo PC2 contribui com 16,2%, apresentando menor significância em relação a PC1.

O eixo PC1 distingue as estações de acordo com a concentração dos esteróis e estanonas. A estação B5 apresentou os maiores valores de concentração dos compostos em relação àquelas presentes no grupo I (G I), onde foram agrupadas todas as estações da plataforma (P1 a P4) além de B1, B3, B6, B7 e B8. A estação B4

apresentou posição intermediária entre B5 e o grupo G I, como resultado de valores de concentração compreendidos entre aqueles verificados em B5 e G I.

Desta maneira, o eixo PC1 pode ser utilizado para representar um possível gradiente decrescente na concentração dos esteróis e estanonas, que ocorre com o aumento dos autovalores relacionados ao PC1.

Apesar da menor significância, o eixo PC2 auxilia na distinção das estações em relação à matéria orgânica, % de silte + argila e coprostanol. A estação B2 diferenciou-se das demais devido aos altos valores relativos de % lama e matéria orgânica, enquanto B5 se encontra separada devido à concentração de coprostanol. As demais estações (B4 e G I) aparecem em posição intermediária, refletindo os baixos valores de % silte + argila, matéria orgânica e coprostanol em relação a B2 e B5.

Desta maneira, a análise estatística a partir da concentração de esteróis fecais e não fecais, estanonas, % silte + argila e matéria orgânica mostrou que as amostras B2, B4, B5 e aquelas que constituem o grupo G I apresentam características distintas entre si.

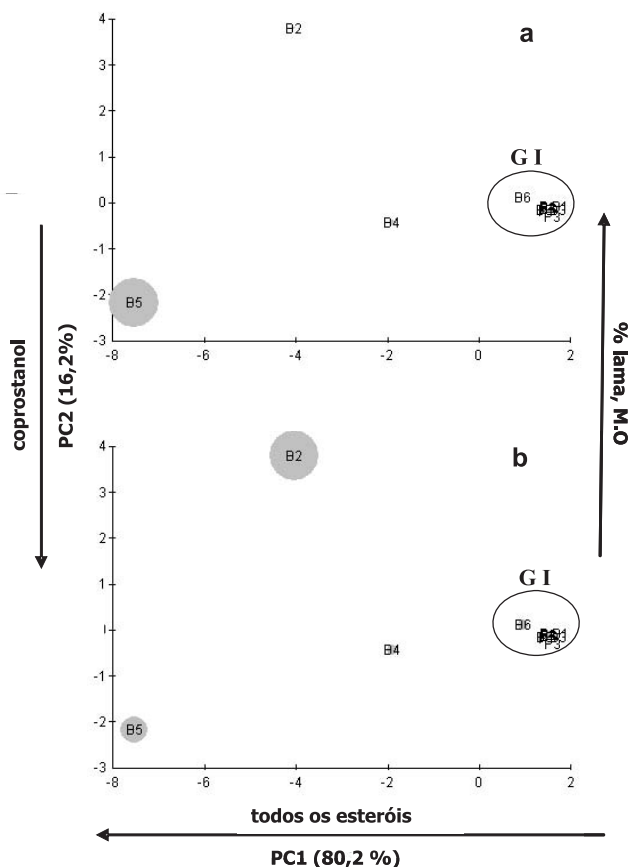
#### Concentração de coprostanol e comparação com outros estudos

Coprostanol é um esterol que tem sido largamente utilizado como indicador de matéria orgânica de origem fecal em ambientes aquáticos, uma vez que este composto ocorre em grandes quantidades em fezes humanas e dejetos domésticos.<sup>5</sup>

Writer *et al.*<sup>32</sup> propuseram que concentrações de coprostanol superiores a  $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$  são associadas com a introdução de esgoto. Gonzalez-Oreja e Saiz-Salinas<sup>33</sup> sugeriram um limite maior ( $>500 \mu\text{g g}^{-1}$ ) como valor indicador de contaminação fecal. Em geral, a presença de concentrações superiores a  $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$  de coprostanol e a proximidade com uma fonte potencial são suficientes para uma avaliação preliminar sobre contaminação por esgoto.<sup>34</sup> A amostra B5 foi a única que apresentou concentrações de coprostanol superiores a  $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , enquanto as estações B2 e B4 apresentaram valores acima de  $0,50 \mu\text{g g}^{-1}$ , indicando possível contribuição de material fecal neste local.

O valor médio encontrado para a concentração de coprostanol nas estações localizadas na Baía de Santos, excluindo a estação B5 ( $8,51 \mu\text{g g}^{-1}$ ), foi de  $(0,30 \pm 0,30) \mu\text{g g}^{-1}$ . Estes valores são similares ou inferiores àqueles encontrados em estudos recentes de diferentes regiões do mundo e do Brasil.

Na Baía de Kyeonggi, Coréia do Sul, Li *et al.*<sup>35</sup> encontraram valores entre  $3,4$  e  $3.800 \text{ ng g}^{-1}$ , com valor médio de  $220 \text{ ng g}^{-1}$ . Eganhouse e Sherblom<sup>36</sup> registraram concentrações de  $0,26$  a  $0,89 \mu\text{g}$



**Figura 3.** Análise de componentes principais entre as amostras coletadas na Baía de Santos e Plataforma Continental e concentração de esteróis e estanonas, matéria orgânica e % silte e argila: (a) representa a variação da concentração de coprostanol, enquanto (b) está relacionada à % silte e argila

g<sup>-1</sup> na Baía de Dorchester, e 6,2 a 12,0 µg g<sup>-1</sup> próximo ao Porto de Boston, E.U.A. Em amostras do Mar Negro, Europa, Readman *et al.*<sup>37</sup> verificaram concentrações de 1 a 2600 ng g<sup>-1</sup>, no setor ucraniano, 54 - 5400 ng g<sup>-1</sup>, no setor russo e 12 - 440 ng g<sup>-1</sup>, no setor turco.

No Brasil, os níveis de coprostanol na Baía de Todos os Santos, BA<sup>38</sup> oscilaram de 0,05 a 2,15 µg g<sup>-1</sup>. No Estuário Capibaribe, em Recife,<sup>39</sup> os níveis variaram entre 0,09 - 2,82 µg g<sup>-1</sup> (3,03 ± 2,32 µg g<sup>-1</sup>) enquanto em manguezais da Ilha de Santa Catarina/SC, Mater *et al.*<sup>40</sup> encontraram valores entre 7,7 e 1.420 ng g<sup>-1</sup>. Martins *et al.*<sup>34</sup> verificaram concentrações de coprostanol até 0,09 µg g<sup>-1</sup> em sedimentos da Lagoa dos Patos, RS, enquanto próximo à cidade de Porto Alegre, a concentração foi de 1,42 µg g<sup>-1</sup>.

Estudos realizados na Baía de Guanabara, RJ, mostram que esta região do litoral brasileiro apresenta as maiores concentrações de coprostanol. Nesta região, os valores encontrados estiveram entre 0,34 - 40,0 µg g<sup>-1</sup>, com concentração média igual a 4,44 ± 3,19 µg g<sup>-1</sup> (desconsiderando-se o valor de 40,0 µg g<sup>-1</sup>, considerado pelos autores excessivamente alto).<sup>41,42</sup> No setor sudoeste desta Baía, na Enseada de Botafogo, os valores estiveram entre 1,4 até 105 µg g<sup>-1</sup>.<sup>43</sup>

Considerando apenas o valor obtido na estação B5, é possível verificar que níveis superiores a este ocorreram apenas nos sedimentos da Baía de Guanabara/RJ, sugerindo um maior grau de contaminação por esgotos em relação a outras áreas comparadas.

Em relação a trabalhos realizados no litoral paulista, as concentrações de coprostanol foram maiores que aquelas obtidas em estudos anteriores. Muniz *et al.*<sup>44</sup> estudando sedimentos da Baía de Picinguaba, Ubatuba, encontraram valores entre 0,03 e 0,27 µg g<sup>-1</sup>. Kawakami<sup>45</sup> obteve uma faixa de 0,02 - 5,91 µg g<sup>-1</sup> em sedimentos coletados próximos às praias das cidades de São Sebastião, Ubatuba e Santos, enquanto o presente estudo encontrou uma variação de 0,04 - 8,51 µg g<sup>-1</sup>.

### Avaliação da qualidade do sedimento

A avaliação da contribuição de esgotos para os sedimentos foi realizada utilizando a concentração de coprostanol e razões envolvendo a concentração dos compostos analisados.

Embora os esteróis fecais, como coprostanol, estejam associados exclusivamente a fontes de esgoto quando se considera áreas costeiras, a utilização da concentração destes compostos não deve ser considerada como parâmetro conclusivo, porém sugere uma possível introdução fecal que pode ser melhor avaliada a partir de razões específicas entre esteróis e estanonas.

As razões utilizadas, bem como os valores obtidos, as faixas de valores empregadas para a classificação das amostras e a avaliação final são exibidas nas Tabelas 3 e 4.

A razão coprostanol/colesterol pode indicar se a área é afetada por esgotos ou não.<sup>4</sup> Valores elevados desta razão (superiores a 1,00) podem estar associados a contribuições por esgotos.<sup>46</sup> O maior valor desta razão foi obtido na estação B5.

Altas porcentagens de epicoprostanol em relação ao total de esteróis fecais indicam uma eficiência no tratamento de efluentes, pois este esterol é formado em grandes quantidades apenas se o tratamento realizado for eficiente.<sup>47</sup>

Desta forma, a utilização da razão epicoprostanol/coprostanol permite estimar o grau de tratamento do efluente descartado em uma área. Valores desta razão inferiores a 0,20 indicam sedimentos contaminados por efluentes não tratados, enquanto que valores superiores a 0,80 sugerem sedimentos que recebem descarga de esgoto com algum tipo de tratamento.<sup>47</sup>

Os pontos B2, B4, B5 e B6 mostraram receber efluentes sem tratamento, ou com tratamento ineficiente. Nos demais pontos a con-

**Tabela 3.** Razões entre diferentes esteróis e estanonas, utilizadas como parâmetros de avaliação da qualidade dos sedimentos coletados na Baía de Santos e Plataforma Continental

parâmetros de avaliação	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	P1	P2	P3	P4
coprostanol/colesterol	0,75	0,54	0,30	0,41	2,54	0,57	0,28	0,55	n.c	n.c	n.c	n.c
% (cop+epi)/esteróis totais	30,8	29,9	17,6	24,4	60,4	27,4	18,0	27,1	6,8	n.c	n.c	n.c
epicoprostanol/coprostanol	0,17	n.c	0,08	0,06	0,08	n.c	n.c	n.c	n.c	n.c	n.c	n.c
cop/(cop+colestanol)	0,52	0,53	0,43	0,52	0,77	0,48	0,49	0,53	n.c	n.c	n.c	n.c
cop-ona/(cop-ona+col-ona)	0,52	0,58	n.c	0,55	0,60	0,57	n.c	0,44	n.c	n.c	n.c	n.c

n.c - não calculado, pois um ou mais compostos da razão apresentou concentração abaixo do limite de detecção do método: < 10,0 ng g<sup>-1</sup> sed. seco; siglas - cop: coprostanol; epi: epicoprostanol; cop-ona: coprostanona; col-ona: colestanol.

**Tabela 4.** Critérios e parâmetros de avaliação da contaminação por esgoto utilizando esteróis e estanonas como indicadores de matéria orgânica de origem fecal

parâmetros de avaliação	critérios	estações vs critérios
(1) concentração de coprostanol <sup>33</sup>	> 0,50 µg g <sup>-1</sup> → contaminado	B2, B4 e B5
(2) coprostanol/colesterol <sup>4</sup>	> 1,00 → contaminado	apenas B5
(3) % (cop+epi)/esteróis totais <sup>7,10</sup>	> 50 % → fortemente contaminado	apenas B5
(4) epicoprostanol/coprostanol <sup>47</sup>	< 0,20 → sujeito a esgoto sem tratamento > 0,80 → sujeito a esgoto com tratamento	B2, B4, B5 e B6 -
(5) cop / cop + colestanol <sup>3</sup>	0,00 - 0,30 → não contaminado 0,30 - 0,70 → utilizar parâmetro 6 > 0,70 → contaminado	demais estações: e-cop < LD P1, P2, P3 e P4 B1, B2, B3, B4, B6, B7 e B8 apenas B5
(6) cop-ona/(cop-ona+col-ona) <sup>3</sup>	0,00 - 0,70 → não contaminado > 0,70 → moderadamente contaminado	B1, B2, B4, B5, B6 e B8 -
		demais estações: cop-ona < LD

Siglas - cop: coprostanol; epi: epicoprostanol; cop-ona: coprostanona; col-ona: colestanol; < LD: concentração abaixo do limite de detecção do método (< 10,0 ng g<sup>-1</sup> sed. seco).

centração de pelo menos um dos compostos esteve abaixo do limite de detecção.

A razão entre coprostanol e colestanol (cop/cop+colestanol) é uma ferramenta de avaliação da origem da contaminação fecal. Os isômeros 5 $\beta$  (por exemplo, coprostanol) são mais associados com o trato intestinal de mamíferos superiores, enquanto os compostos 5 $\alpha$  (por exemplo, colestanol) são produtos termodinâmicos formados por processos bacterianos nos sedimentos.<sup>3</sup>

Assim, valores inferiores a 0,30 são característicos de ambientes não poluídos, onde o predomínio de colestanol é associado a fontes naturais. Valores superiores a 0,70 são verificados em sedimentos contaminados por esgotos. Quando a área estudada apresenta valores entre 0,30 e 0,70, utiliza-se um índice mais específico envolvendo os isômeros 5 $\beta$  e 5 $\alpha$  das estanonas.<sup>3</sup>

Todos os pontos da Plataforma (P1, P2, P3 e P4) apresentaram valores abaixo de 0,30, portanto, não contaminados. A amostra B5 apresentou valores de sedimentos severamente contaminados por esgoto. Para os demais pontos, é necessário utilizar um índice mais específico.

A razão entre as estanonas (cop-ona/(cop-ona+col-ona)) complementa o uso da razão dos esteróis 5 $\alpha$  e 5 $\beta$ . A cetona coprostanona está presente em fezes humanas e colestanonona pode ser encontrada em sedimentos, como produto de transformações termodinâmicas entre os isômeros 5 $\beta$ →5 $\alpha$ , de modo que valores superiores a 0,70 indicam área contaminada.<sup>3</sup>

Os resultados obtidos através deste índice mostraram que as estações B1, B2, B4, B5, B6 e B8 não estão contaminadas por esgotos. Uma ressalva deve ser feita em relação à B5, onde todos os demais índices indicaram contaminação por esgotos, enquanto para esta razão o valor obtido não confirmou esta tendência. Este resultado mostra a necessidade da utilização de multiparâmetros para a obtenção de uma avaliação conclusiva.

A porcentagem de esteróis fecais (coprostanol + epicoprostanol) em relação ao total dos esteróis quantificados (%(cop+e-cop)/esteróis totais) permite avaliar se a área de estudo recebe elevadas descargas de esgoto.<sup>10</sup> Novamente, apenas a estação B5 obteve resultado positivo para este parâmetro, indicando forte contaminação.

Este parâmetro permite ainda avaliar a extensão alcançada pelo esgoto descartado via emissário submarino de Santos, excluindo-se o efeito da granulometria, ou seja, possibilita a comparação direta entre estações com diferentes composições sedimentares, uma vez que o resultado final é expresso em termos de porcentagem.<sup>7,48</sup>

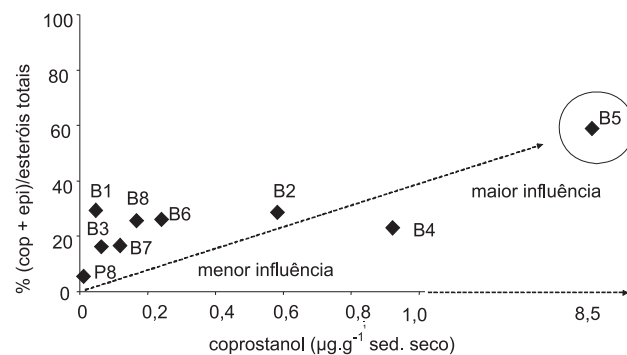
A maior influência do esgoto descartado, devido aos altos valores de esteróis fecais, ocorre na estação B5 e esta contribuição fecal diminui com a distância do emissário (respectivamente, estações B4, B2 e B6), não sendo significativo nas estações da Plataforma Continental Adjacente (Figura 4).

De maneira geral, todos os parâmetros indicaram que os pontos B1, B3, B6, B7, B8 e aqueles localizados na plataforma se mostraram ausentes de contaminação fecal. Os pontos B2 e B4 foram considerados sujeitos à introdução de material fecal, enquanto B5, localizado após o emissário de Santos, pode ser considerado impactado por esgotos, pois apresentou resultado positivo para contaminação por esgoto em todos os parâmetros avaliados.

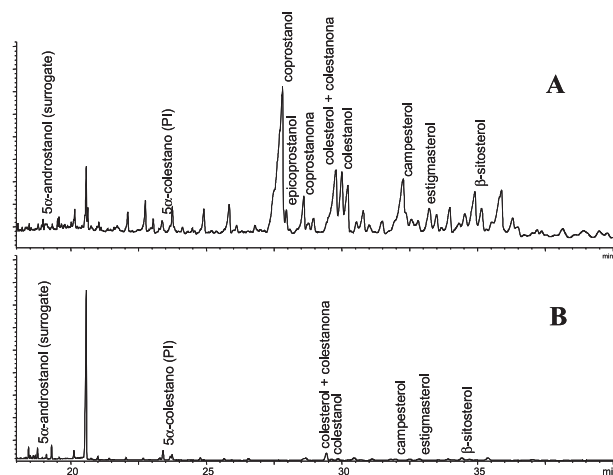
A Figura 5 mostra o cromatograma obtido nesta estação, juntamente com o cromatograma do ponto P4 (não-contaminado), onde é visível a diferença entre as estações.

Estes resultados concordam com Medeiros e Bicego,<sup>21</sup> que ao analisarem a concentração de alquilbenzenos lineares totais em sedimentos da Baía de Santos, constataram que os maiores valores ocorreram próximo à saída do emissário submarino.

As estações classificadas como sujeitas à contaminação fecal (B2, B4 e B5) estão posicionadas na porção centro-oeste da Baía de Santos,



**Figura 4.** Avaliação da extensão alcançada pelo esgoto descartado na Baía de Santos através da razão entre os esteróis fecais em relação aos esteróis totais e da concentração de coprostanol



**Figura 5.** Cromatogramas da fração contendo os esteróis e estanonas obtidas a partir da análise das amostras coletadas nas estações B5 (A) e P4 (B)

caracterizadas pelos maiores valores de carbono orgânico total, nitrogênio total e silte + argila.<sup>49</sup>

Os maiores valores de coprostanol, matéria orgânica e silte + argila nesta porção estão relacionados ao controle sedimentar exercido pela hidrodinâmica da área, resultando em sedimentos marinhos vindos de sudoeste e pela influência do emissário submarino, que por agir como uma barreira hidráulica altera a circulação nessa porção da baía, possibilitando a deposição de material em suspensão.<sup>49</sup>

Os baixos valores de coprostanol nas estações localizadas nas saídas dos Canais de Porto e de São Vicente (B7 e B8) sugere que a matéria orgânica de origem fecal, descartada clandestinamente no interior do estuário, fica retida nesta região, devido à baixa profundidade e o predomínio de sedimentos finos.<sup>21</sup>

A parcela que alcança a Baía acaba por sedimentar em locais onde há quebra da energia do fluxo, no encontro das águas dos canais com as da baía,<sup>49</sup> ou seja, nas estações B4 e B6, sendo que B4 conta com uma contribuição extra, proveniente do emissário submarino. A comparação entre a porcentagem de silte + argila nas estações B8 e B7 (1,58 e 2,32) com B4 e B6 (18,5 e 18,5) ratifica esta hipótese.

Santos possui 7 canais que foram projetados para a drenagem das águas pluviais, mas, durante anos, tornaram-se receptores de esgotos clandestinos. Na década de 90, 6 destes canais foram barrados e o material foi encaminhado para disposição final juntamente com os esgotos do município via emissário submarino.<sup>16</sup>

Assim, a ausência de contaminação fecal nas estações próximas à costa (B7 e B8) pode ser associada ao tipo de sedimento encontrado

nestes locais. Porém, um número maior de estações deve ser estudado para que esta tendência seja confirmada e, com isso, atestar sobre a eficiência no procedimento de fechamento de canais de drenagem, adotado pela Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo (SABESP).

## CONCLUSÕES

A partir da análise de esteróis e estanoas em sedimentos superficiais da Baía de Santos e da Plataforma Continental foi possível caracterizar a área de estudo com a relação à contaminação fecal.

Através da concentração de coprostanol e parâmetros de avaliação associando esteróis fecais, não fecais e estanoas foi possível verificar que apenas o ponto imediatamente na desembocadura do emissário submarino de Santos (B5) se encontra contaminado por esgoto, sendo que as estações localizadas na porção centro-oeste da baía (B2 e B4) apresentam alguma contribuição fecal. Esta distribuição está associada a fatores hidrodinâmicos e à granulometria dos sedimentos, coincidindo com altos valores de carbono orgânico e nitrogênio verificados em outros estudos na região.<sup>49</sup>

A ausência de contaminação por esgotos foi verificada nas estações da Plataforma Continental, indicando que o material fecal descartado pelo emissário não atinge estes pontos, e aqueles localizados nas saídas dos canais do estuário santista e na porção norte (B3).

Uma possível contribuição proveniente do descarte irregular de esgoto no estuário e das atividades do Porto de Santos não foi confirmada nas estações localizadas próximas às desembocaduras do estuário santista (B7 e B8).

Desta maneira, pode se dizer que a principal fonte de material fecal para a Baía de Santos é o emissário submarino de Santos.

A concentração de coprostanol encontrada na estação B5 foi superior àquela verificada em sedimentos de outras regiões costeiras do Brasil, com exceção apenas da Baía de Guanabara/RJ, indicando a necessidade de um monitoramento contínuo para se conhecer as características ambientais deste ecossistema.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

A Figura 1S representa o mapa da área de estudo e os pontos de coleta de sedimentos: (A) estado de São Paulo; (B) Baixada Santista; Baía de Santos e Plataforma Continental (C). Está disponível gratuitamente em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo PDF

## AGRADECIMENTOS

À tripulação do N/Oc. W. Besnard e do B/Pq Veliger II e integrantes do Laboratório de Ecologia Bêntica do Instituto Oceanográfico da USP pela ajuda na coleta das amostras. À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio financeiro (Processo nº 03/09932-1).

## REFERÊNCIAS

- Clark, R.; *Marine Pollution*, 5<sup>th</sup> ed., Oxford University Press: Oxford, 2001.
- Venkatesan, M. I.; Mirsadeghi, F. H.; *Mar. Pollut. Bull.* **1992**, *25*, 328.
- Grimalt, J. O.; Fernandez, P.; Bayona, J. M.; Albaiges, J.; *Environ. Sci. Technol.* **1990**, *24*, 357.
- Mudge, S. M.; Bebianno, M. J.; *Mar. Pollut. Bull.* **1997**, *34*, 163.
- Maldonado, C.; Venkatesan, M. I.; Phillips, C. R.; Bayona, J.M.; *Mar. Pollut. Bull.* **2000**, *40*, 680.
- Nguyen, D.; Bruchet, A.; Arpino, P.; *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 1686.
- Venkatesan, M. I.; Kaplan, I. R.; *Environ. Sci. Technol.* **1990**, *24*, 208.

- Peng, X.; Zhang, G.; Mai, B.; Man, Y.; Wang, Z.; *Mar. Pollut. Bull.* **2004**, *45*, 295.
- Martins, C. C.; Montone, R. C.; Gambá, R. C.; Pellizari, V. H.; *Braz. J. Oceanogr.* **2005**, *53*, 1.
- Sherwin, M. R.; Van Vleet, E. S.; Fossato, V. U.; Dolch, F.; *Mar. Pollut. Bull.* **1993**, *26*, 501.
- Green, G.; Nichols, P. D.; *Antarct. Sci.* **1995**, *7*, 137.
- Venkatesan, M. I.; Santiago, C. A.; *Mar. Biol.* **1989**, *102*, 431.
- Quémérène, M.; Marty, Y.; *Water Res.* **1994**, *28*, 1217.
- Volkman, J. K.; Barret, S. M.; Blackburn, S. I.; Mansour, M. P.; Sikes, E. L.; Gelin, F.; *Org. Geochem.* **1998**, *29*, 1163.
- Martins, C. C.; *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo, Brasil, 2001.
- CETESB; *Relatório de balneabilidade das praias paulistas*, São Paulo, 1997.
- Hortellani, M. A.; Sarkis, J. E. S.; Bonetti, J.; Bonetti, C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1140.
- Abessa, D. M. S.; Carr, R. S.; Rachid, B. R. F.; Sousa, E. C. P. M.; Hortellani, M. A.; Sarkis, J. E.; *Mar. Pollut. Bull.* **2005**, *50*, 875.
- Bícego, M. C.; Taniguchi, S.; Yogui, G. T.; Montone, R. C.; Silva, D. A. M.; Lourenço, R. A.; Martins, C. C.; Sasaki, S.; Pellizari, V. H.; Weber, R. R.; *Mar. Pollut. Bull.* **2006**, *52*, 1784.
- Martins, C. C.; Mahiques, M. M.; Bícego, M. C.; Fukumoto, M. M.; Montone, R. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **2007**, *54*, 240.
- Medeiros, P. M.; Bícego, M. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **2004**, *49*, 761.
- Luiz-Silva, W.; Matos, R. H. R.; Kristosch, G. C.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 753.
- Luiz-Silva, W.; Matos, R. H. R.; Kristosch, G. C.; Machado, W.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 256.
- Kawakami, S. K.; Montone, R. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2002**, *13*, 226.
- Qian, Y.; Jackson, T.; *Standard Operating Procedures from Geochemical and Environmental Research Group*, TAMU: College Station, USA, 1997.
- CITAC/Eurachem Guide; *Guide to Quality in Analytical Chemistry* 2002, p. 57.
- Suguio, K.; *Introdução a sedimentologia*, EDUSP: São Paulo, 1973.
- Byers, S. C.; Mills, E. L.; Stewart, P. L.; *Hydrobiologia* **1978**, *58*, 37.
- Clarke, K. M.; Warwick, R. M.; *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*, Plymouth Marine Laboratory: Plymouth, 1994.
- Carr, M.; *Plymouth routines in multivariate ecological research (PRIMER) v. 5.0*, Plymouth Marine Laboratory: Plymouth, 1997.
- Volkman, J. K.; *Org. Geochem.* **1986**, *9*, 83.
- Writer, J. H.; Leenheer, J. A.; Barber, L. B.; Amy, G. L.; Chapra, S. C.; *Water Res.* **1995**, *29*, 1427.
- Gonzalez-Oreja, J. A.; Saiz-Salinas, J. I.; *Mar. Pollut. Bull.* **1998**, *36*, 868.
- Martins, C. C.; Fillmann, G.; Montone, R. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 106.
- Li, D.; Shim, W. J.; Dong, M.; Oh, S. H. H.; *Mar. Pollut. Bull.* **2007**, *54*, 201.
- Eganhouse, R. P.; Sherblom, P. M.; *Mar. Environ. Res.* **2001**, *51*, 74.
- Readman, J. W.; Fillmann, G.; Tolosa, I.; Bartocci, J.; Mee, L. D.; *Mar. Pollut. Bull.* **2005**, *50*, 310.
- Santos, B. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal da Bahia, Brasil, 1997.
- Fernandes, M. B.; Sicre, M.-A.; Cardoso, J. N.; Macedo, S. J.; *Sci. Total Environ.* **1999**, *23*, 1.
- Mater, L.; Alexandre, M. R.; Hansel, F. A.; Madureira, L. A. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 725.
- Carreira, R.; Wagener, A. L. R.; Tileman, T.; Readman, J. W.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 37.
- Carreira, R.; Wagener, A. L. R.; Readman, J. W.; *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **2004**, *60*, 587.
- Costa, R. L.; Carreira, R. S.; *Braz. J. Oceanogr.* **2005**, *53*, 157.
- Muniz, P.; Pires-Vanin, A. M. S.; Martins, C. C.; Montone, R. C.; Bícego, M. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **2006**, *52*, 1090.
- Kawakami, S. K.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1999.
- Jeng, W. L.; Han, B. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **1994**, *28*, 494.
- Mudge, S. M.; Seguel, C. G.; *Mar. Pollut. Bull.* **1999**, *38*, 1011.
- Martins, C. C.; Venkatesan, M. I.; Montone, R. C.; *Antarct. Sci.* **2002**, *14*, 244.
- Fukumoto, M. M.; Mahiques, M. M.; Tessler, M. G.; *J. Coastal Res.* **2006**, *SI39*, 1737.

## MARCADORES ORGÂNICOS DE CONTAMINAÇÃO POR ESGOTOS SANITÁRIOS EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA BAÍA DE SANTOS, SÃO PAULO

César de Castro Martins\*

Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, CP 50.002, 83255-000 Pontal do Paraná – PR, Brasil

Fernanda Boechat Azeredo Gomes, Juliana Aureliano Ferreira e Rosalinda Carmela Montone

Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, Praça do Oceanográfico, 191, 05508-900 São Paulo – SP, Brasil

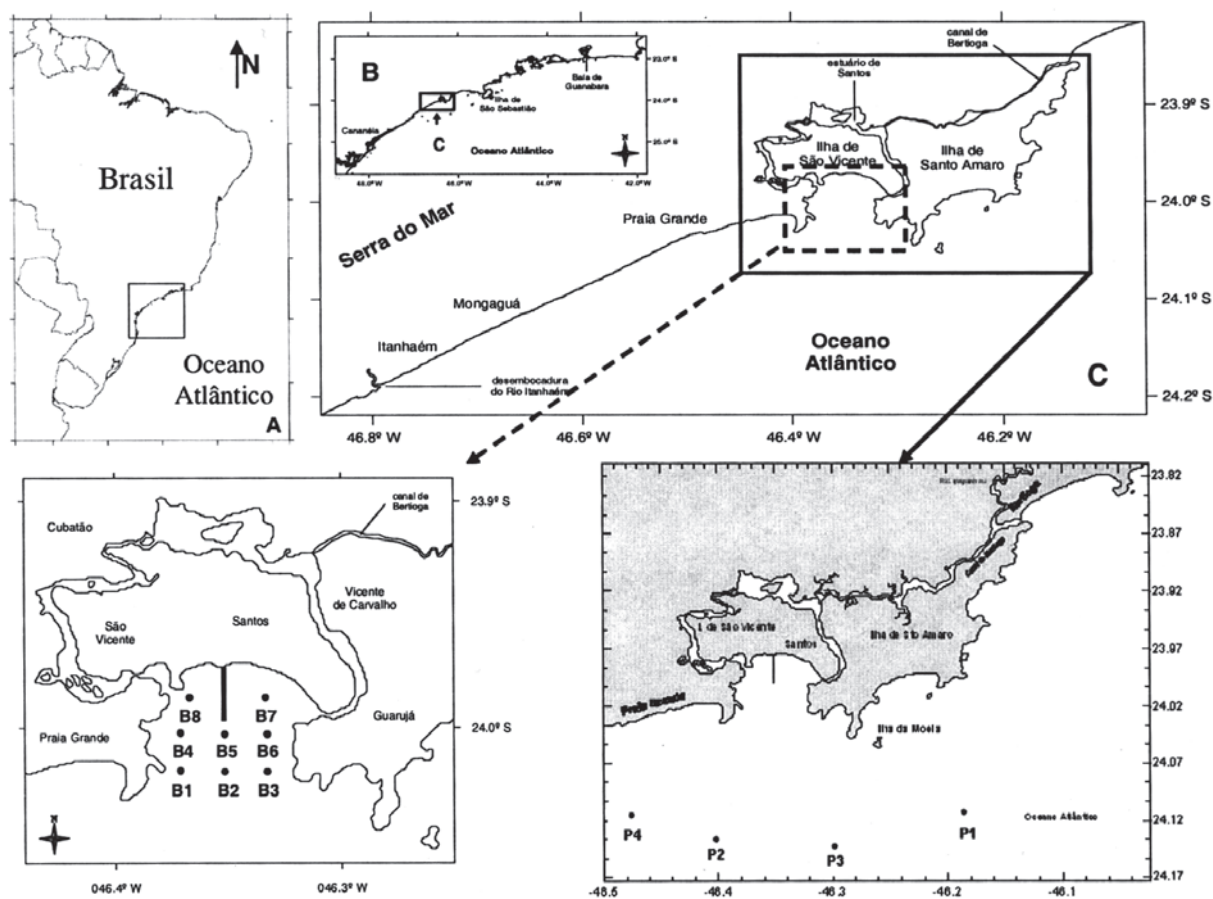


Figura 1S. Mapa da área de estudo e pontos de coleta de sedimentos. (A) Estado de São Paulo; (B) Baixada Santista; Baía de Santos e Plataforma Continental (C)

\*e-mail: ccmart@ufpr.br