

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)**

---

**AVALIAÇÃO DE RECURSOS HÍDRICOS SOB A  
INFLUÊNCIA DE ATIVIDADES DE UMA INDÚSTRIA  
DO PETRÓLEO, POR MEIO DE ANÁLISES  
ECOTOXICOLÓGICAS INTEGRADAS  
A PARÂMETROS AMBIENTAIS**

**MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

Novembro - 2014

**AVALIAÇÃO DE RECURSOS HÍDRICOS SOB A  
INFLUÊNCIA DE ATIVIDADES DE UMA INDÚSTRIA DO  
PETRÓLEO, POR MEIO DE ANÁLISES  
ECOTOXICOLÓGICAS INTEGRADAS A PARÂMETROS  
AMBIENTAIS**

**MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO**

**Orientadora: Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

Rio Claro

Estado de São Paulo – Brasil

Novembro – 2014

574.87 Roberto, Matheus Mantuanelli  
R642a Avaliação de recursos hídricos sob a influência de  
atividades de uma indústria do petróleo, por meio de análises  
ecotoxicológicas integradas a parâmetros ambientais /  
Matheus Mantuanelli Roberto. - Rio Claro, 2014  
167 f. : il., figs., gráfs., tabs., quadros, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientador: Maria Aparecida Marin Morales

1. Citologia. 2. Monitoramento ambiental. 3. Efluente de  
refinaria de petróleo. 4. Citotoxicidade. 5. Genotoxicidade. 6.  
Mutagenicidade. 7. Correlação multivariada. I. Título.

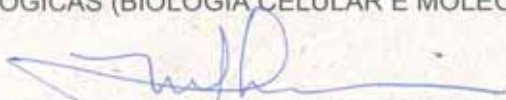
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Avaliação de recursos hídricos sob a influência de atividades de uma indústria do petróleo, por meio de análises ecotoxicológicas integradas

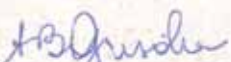
**AUTOR:** MATHEUS MANTUANELLI ROBERTO

**ORIENTADORA:** Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES

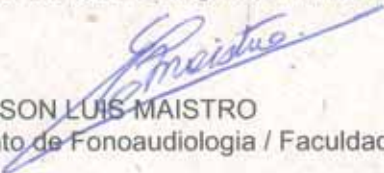
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:



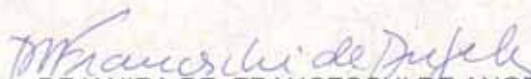
Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES  
Departamento de Biologia / Instituto de Biociências de Rio Claro



Profa. Dra. ALEXEIA BARUFFATTI GRISOLIA  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - UFGD



Prof. Dr. EDSON LUIS MAISTRO  
Departamento de Fonoaudiologia / Faculdade de Filosofia e Ciências de Marília



Profa. Dra. DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS  
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro



Profa. Dra. JAQUELINE BIANCHI AMBROSIO  
Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Data da realização: 14 de novembro de 2014.

Título alterado para: Avaliação de recursos hídricos sob a influência de uma indústria de petróleo, por meio de análise ecotoxicológicas integradas a parâmetros ambientais

Dedico este trabalho aos meus pais, Francisco e Arlete, que sempre me deram apoio e incentivo para continuar nesta longa jornada acadêmica.

## Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Rio Claro/SP, junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular), por cederem a estrutura necessária para a realização de todo o trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro concedido durante a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales, pelas oportunidades concedidas desde minha iniciação científica, pela convivência pessoal e profissional, pelos ensinamentos e conselhos tão valiosos para a minha formação. Agradeço à esta pessoa que, além de uma grande amiga, se tornou um exemplo de caráter, ética, profissionalismo e dedicação. Muito obrigado, minha “mãe acadêmica”.

À Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis pelo constante apoio ao Laboratório de Mutagênese Ambiental e aos seus membros. Agradeço por sempre incentivar nosso crescimento pessoal e profissional. Agradeço também pela coordenação geral do convênio Fundunesp/Petrobras (1100.0067969.11.4) que financiaram o desenvolvimento deste projeto.

À Dra. Dilza Aparecida Nalin pelo auxílio na reunião dos dados provenientes das análises realizadas no Departamento de Bioquímicas e Microbiologia da UNESP, campus de Rio Claro/SP. Agradeço pelo constante auxílio durante todo o desenvolvimento do projeto.

Ao Prof. Dr. José Silvio Govone pelas orientações sobre as análises de correlação.

Aos professores e funcionários do Departamento de Biologia pela ajuda e pela convivência.

Ao Valdenilson José Alves de Oliveira, o Zito, pela realização de todas as coletas utilizadas neste trabalho e pelo agradável convívio durante as passagens pelo Laboratório de Toxicidade.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Mutagênese Ambiental, do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Rio Claro. Agradeço pela agradável convivência, pelos conselhos, pelas preocupações, pelos momentos de descontração e companheirismo. Faço um agradecimento especial aos membros do convênio Fundunesp/Petrobras, Cristiane, Dânia, Laís, Leonardo, Márcia, Maria Tereza, Michele e Nádia, pelo trabalho em equipe e pelo esforço despendido na realização dos experimentos, sem os quais este trabalho não seria possível.

Aos professores e amigos que fiz enquanto lecionava no Colégio Alem, em especial à coordenadora pedagógica Cristine Alem Melchior, por permitir minhas ausências durante eventos e situações importantes em minha vida acadêmica e se tornar uma grande amiga.

Aos meus queridos amigos pelo constante apoio e incentivo durante os momentos difíceis e por compartilhar os momentos de alegria. Tudo fica muito mais divertido na presença de grandes amigos.

Aos meus queridos pais, Francisco e Arlete, por sempre me darem apoio e conselhos em minhas decisões. Por compreenderem meus momentos de ausência e entenderem a dificuldade em conciliar a vida acadêmica, profissional e pessoal. Quero que saibam que valorizo e aprecio muito os momentos em que estamos juntos.

Aos meus irmãos, Danilo e Mariana, também por entenderem a minha ausência em certos momentos. Por sempre oferecerem amizade, companheirismo e apoio, além dos momentos de descontração fundamentais em uma família.

À minha amada esposa, Gleí, por aturar meus momentos de estresse e mau humor e, mesmo assim, estar sempre ao meu lado, apoiando e incentivando. Agradeço a amizade e o companheirismo e por tornar a minha vida feliz há mais de uma década. Amo muito você!

Aos meus sogros, Benedito e Ieda, e meus cunhados, Cleiton e Fabiana, pelo incentivo, apoio e companheirismo. Sou muito grato pela outra família que encontrei.

À minha cachorrinha Nina, por trazer muita alegria ao nosso lar.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho ou colaboraram para a minha formação, mesmo que não estejam citados aqui.

## Resumo

A poluição e a preservação dos recursos hídricos são temas de grande preocupação mundial. As indústrias petroquímicas, cujas atividades têm sido intensas e crescentes nas últimas décadas, utilizam grandes volumes de água e geram grandes quantidades de efluentes. Dependendo da legislação do país e da conscientização da população sobre os prejuízos da poluição, muitas indústrias do petróleo têm também mostrado preocupação com o potencial poluidor de seus efluentes. Algumas indústrias deste setor têm se preocupado com a qualidade do ambiente do seu entorno, procurando minimizar os impactos gerados pela empresa, por meio do tratamento dos seus efluentes, bem como incentivando o monitoramento ambiental da área onde atuam. A maior refinaria de petróleo do Brasil está localizada na cidade de Paulínia/SP, entre dois grandes rios da região (Jaguari e Atibaia). Esta refinaria capta a água do rio Jaguari, a utiliza no processo de refino, trata a água servida e, só posteriormente, lança-a no rio Atibaia. Apesar de estes dois rios serem reconhecidamente impactados, devido à grande urbanização, industrialização e intensa atividade agrícola, eles servem para o abastecimento público das cidades da região e, portanto, devem ser preservados. Os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de diversas amostras de água coletadas nestes rios por meio de dois organismos-teste (*Allium cepa* e *Oreochromis niloticus*); (ii) avaliar estes parâmetros, por meio dos mesmos organismos-teste, das amostras de água coletadas em diferentes etapas do tratamento do efluente realizado pela refinaria, durante o período de 2009 a 2013; e (iii) correlacionar a influência dos fatores físicos e químicos sobre a biota endêmica e, conseqüentemente, na ecotoxicologia do ecossistema. As análises físicas e químicas destas amostras foram realizadas a fim de, traçar o perfil dessas águas nas diferentes estações do ano, confrontar os resultados desta análise com a legislação brasileira vigente, e correlacionar os efeitos desses parâmetros com as respostas biológicas registradas para os organismos expostos. Os dados meteorológicos, referentes aos períodos de coleta, foram obtidos para se determinar o regime pluviométrico e climático da região estudada. Os resultados destas análises demonstraram que estes dois parâmetros têm uma correlação com os efeitos de citotoxicidade e genotoxicidade registrados, principalmente observado nos períodos de inícios de chuvas intensas. Outro resultado importante deste estudo foi que as águas, coletadas no ponto de captação da refinaria e na montante do despejo do efluente, apresentaram resultados tóxicos preocupantes, representando um indicativo de que existe a influência de outras atividades humanas afetando a qualidade desses recursos hídricos. As análises físicas e químicas demonstraram que



alguns parâmetros estão em discordância com a legislação vigente, comprometendo a qualidade das águas destes corpos d'água. Os dados meteorológicos definiram períodos quentes e chuvosos (primavera e verão) e períodos mais frios e secos (outono e inverno) que, juntamente com os resultados físicos e químicos, serviram para uma melhor interpretação dos resultados biológicos encontrados. A partir de todos os resultados obtidos, foi realizada uma análise multivariada de correlação para determinar quais os principais fatores ambientais que podem estar diretamente relacionados com os impactos registrados nos ensaios biológicos. Embora este método estatístico seja pouco explorado, seus resultados foram satisfatórios, principalmente quando aplicados aos dados obtidos nos testes realizados com organismos-teste mais sensíveis, como os peixes. Pelos resultados deste estudo, alertamos que, apesar da influência da refinaria ser pequena sobre a biota e sobre a qualidade da água dos rios, o monitoramento desta área deve ser constante, para que se possa assegurar as melhores condições ambientais para a região e, conseqüentemente, um ambiente saudável à toda biota dependente.

**Palavras-chave:** efluente de refinaria de petróleo; citotoxicidade; genotoxicidade; mutagenicidade; análise de parâmetros ambientais; correlação multivariada.

## Abstract

The pollution and the preservation of water resources are a global concern theme. The petrochemical industry, whose activities are high and have been increasing in the past decades, uses large volumes of water and generate big amounts of effluents. Depending on the laws of the country and the population awareness, many oil companies have shown a concern about their wastewater potential to pollute. Some industries of this sector have been worrying about the surrounding environment quality, attempting to minimize the impact by treating the wastewater, as well as stimulating the monitoring of the area where they operate. The largest oil refinery in Brazil is located in Paulínia municipality, São Paulo State, between two major rivers (Jaguari and Atibaia). This company gets water from the Jaguari river, treats the wastewater and discharge it in the Atibaia river. Despite the known impact on both rivers, mainly because of the urbanization, industrialization and the high agricultural activity, they supply the cities of the region and therefore should be preserved. The aims of this study were: (i) evaluate the cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of several water samples collected from these rivers through two test organisms (*Allium cepa* e *Oreochromis niloticus*); (ii) evaluate those parameters, using the same test organisms, on the water samples collected at different stages of wastewater treatment performed by the refinery from 2009 to 2013, and (iii) correlate the influence of the physical, physicochemical and chemical factors on the endemic biota and, consequently, on the ecosystem ecotoxicology. The physicochemical and chemical analyses of these samples were also performed in order to make a profile of those waters in different seasons, compare the results of this analysis to the current Brazilian law and correlate them to the biological responses showed by the exposed organisms. Meteorological data of rainfall and climate were also registered, which showed to have a correlation with the recorded cytotoxicity and genotoxicity effects, mainly in the early periods of intense rainfall. Another important result of this study was that the water collected at the refinery collection point and at the upstream of the effluent discharge point have shown worrying toxicity levels, which may be a strong evidence that there is influence of other human activities on the quality of this water. The physicochemical and chemical analysis showed that some parameters are in disagreement with current law, affecting the water quality of these rivers. The meteorological data showed defined hot and rainy seasons (spring and summer) and cooler and drier periods (autumn and winter), which combined to the physicochemical results, were useful to a better comprehension of the biological results. From all the sampled results, a multivariate correlation analysis was performed to determine the main environmental factors that may be directly related to

the effects obtained by biological assays. Despite this mathematical method is not being much explored its results were satisfactory, especially when applied to the data obtained by tests realized with more sensitive organisms, such as fish. From the results of this study we warn that, in spite of the influence of the refinery being small on the biota and the water rivers quality, the monitoring of this area must be constant, so we can ensure the best environmental conditions for the region and hence a healthy environment for all dependent biota.

**Keywords:** oil refinery wastewater; citotoxicity; genotoxicity; mutagenicity; environmental parameters analysis; multivariate correlation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Revisão de Literatura

Figura 1 – Localização da refinaria de petróleo, localiza em Paulínia/SP, entre os rios Jaguari e Atibaia.....	15
--	----

### Material e Métodos

Figura 2 – Esquema representando a localização da refinaria de petróleo de Paulínia/SP, entre os rios Jaguari e Atibaia .....	17
Figura 3 – Aquários utilizados para a exposição dos espécimes de <i>O. niloticus</i> , durante o período de 72 horas.....	20

### Artigo 2

Figura 1 – Imagens de satélite referentes aos locais de coleta de águas. As setas indicam o ponto referenciado na imagem e suas respectivas coordenadas geográficas.. .....	84
---	----

### Artigo 3

Figura 1 – Esquema da localização da refinaria de petróleo de Paulínia/SP e dos pontos em seu entorno e em seu interior. ....	126
Figura 2 – Gráficos das médias dos parâmetros: cor aparente, coliformes totais e bactérias heterotróficas.....	127
Figura 3 – Gráficos das médias dos parâmetros: pH, condutividade, temperatura e turbidez. ...	128
Figura 4 – Gráficos das médias dos parâmetros: sólidos totais, sólidos sedimentáveis, matéria volátil e matéria fixa residual.....	129
Figura 5 – Gráficos das médias dos parâmetros: oxigênio dissolvido, demanda química de oxigênio e demanda bioquímica de oxigênio. ....	130
Figura 6 – Gráficos das médias dos parâmetros: cloretos, amônia, nitrito e nitrato.....	131
Figura 7 – Gráficos das médias dos parâmetros: sulfeto, cianeto, arsênio e selênio.....	132
Figura 8 – Gráficos das médias dos parâmetros: óleos e graxas, mercúrio, alumínio e ferro.....	133

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

### Material e Métodos

Quadro 1 – Coletas de água realizadas no entorno e no interior da refinaria de petróleo e respectivos organismos-teste utilizados. ....	16
Quadro 2 – Localização geográfica dos pontos de coleta. ....	17

### Artigo 2

Tabela 1 – Dados pluviométricos referentes às datas de coleta das amostras de água ( <i>ex situ</i> ) ou à exposição dos peixes no rio Atibaia ( <i>in situ</i> ). ....	85
Tabela 2 – Registros de temperatura referentes às datas de coleta das amostras de água ( <i>ex situ</i> ) ou à exposição dos peixes no rio Atibaia ( <i>in situ</i> ). ....	85
Tabela 3 – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2011 ao inverno de 2012. Monitoramento da eficácia do tratamento da refinaria..	86
Tabela 4 – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2012 ao outono de 2013. Monitoramento da eficácia do tratamento da refinaria. ..	88
Tabela 5 – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2011 ao inverno de 2012. Monitoramento da influência da refinaria sobre o rio Atibaia. ....	90
Tabela 6 – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2012 ao outono de 2013. Monitoramento da influência da refinaria sobre o rio Atibaia. ....	92
Tabela 7 – Frequências de células portadoras de morte celular e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria. ....	94
Tabela 8 – Frequências de células portadoras de anormalidades nucleares e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria. ....	95
Tabela 9 – Frequências de células micronucleadas e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria. ....	96
Tabela 10 – Frequências de células portadoras de morte celular e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno. ....	97
Tabela 11 – Frequências de células portadoras de anormalidades nucleares e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno. ....	98

Tabela 12 – Frequências de células micronucleadas e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno.....	99
Tabela 13 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados meteorológicos. ....	100
Tabela 14 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos. ....	101
Continuação da Tabela 14 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos.....	102

### Artigo 3

Tabela 1 – Dados pluviométricos referentes às datas de coleta das amostras de água e de efluente da refinaria. ....	134
Tabela 2 – Registros de temperatura referentes às datas de coleta das amostras de água e de efluente da refinaria. ....	135
Tabela 3 – Número de coletas cujos resultados das análises físicas e químicas excederam os limites permitidos pela legislação vigente, determinado pelo CONAMA. ....	136
Tabela 4 – Frequências de células em divisão (Índice mitótico - I.M.), obtidas de meristemas de <i>Allium cepa</i> expostos às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação. ....	137
Tabela 5 – Frequências de células em processo de morte celular, após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação.....	138
Tabela 6 – Frequências de células portadoras de aberrações cromossômicas (AC), após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação. ....	139
Tabela 7 – Frequências de células portadoras de micronúcleos (MN), após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação. ....	140
Tabela 8 – Frequências de células em processo de divisão celular (Índice mitótico - I.M.), após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa. ....	141

Tabela 9 – Frequências de células em morte celular, após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa.....	142
Tabela 10 – Frequências de células portadoras de aberrações cromossômicas (AC), após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa. ....	143
Tabela 11 – Frequências de células portadoras de micronúcleos (MN), após a exposição de sementes de <i>Allium cepa</i> ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa. ....	144
Tabela 12 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados meteorológicos. ....	145
Tabela 13 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos. ....	146
Continuação da Tabela 13 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos. ....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AC</b>	Aberrações Cromossômicas
<b>AN</b>	Anormalidades Nucleares
<b>APHA</b>	<i>American Public Health Association</i>
<b>BTEX</b>	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
<b>CAS</b>	<i>Chemical Abstracts Service</i>
<b>CBH-PCJ</b>	Comitê de Bacias Hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiá
<b>CCa</b>	Correlação Multivariada Canônica
<b>CEA</b>	Centro de Estudos Ambientais
<b>CEAPLA</b>	Centro de Análise e Planejamento Ambiental
<b>CETESB</b>	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
<b>CL50</b>	Concentração Letal para 50% da população
<b>CN</b>	Controle Negativo
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>CP</b>	Controle Positivo
<b>CRJ</b>	Captação no rio Jaguari
<b>D.B.O.</b>	Demanda Bioquímica de Oxigênio
<b>D.Q.O.</b>	Demanda Química de Oxigênio
<b>DNA</b>	<i>DeoxyriboNucleic Acid</i> – Ácido Desoxirribonucleico
<b>E.T.A.</b>	Estação de Tratamento de Água
<b>EPA/USEPA</b>	<i>Environmental Protection Agency</i> – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América
<b>ETB</b>	Estação de Tratamento Biológico
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>GLP</b>	Gás Liquefeito de Petróleo
<b>GPS</b>	<i>Global Positioning System</i> – sistema de posicionamento global
<b>HPA</b>	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
<b>I.M.</b>	Índice Mitótico
<b>IARC</b>	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
<b>IGCE</b>	Instituto de Geociências e Ciências Exatas
<b>JRA1</b>	Jusante do rio Atibaia 1



<b>JRA2</b>	Jusante do rio Atibaia 2
<b>JUS</b>	Jusante – tratamento <i>in situ</i>
<b>LE-E</b>	Lagoa de Estabilização – Efluente
<b>M.F.R.</b>	Matéria Fixa Residual
<b>M.V.</b>	Matéria Volátil
<b>MMS</b>	Metilmetano sulfonato
<b>MN</b>	Micronúcleo(s)
<b>MON</b>	Montante – tratamento <i>in situ</i>
<b>MRA</b>	Montante do rio Atibaia
<b>NTU</b>	Unidades Nefelométricas de Turbidez
<b>O.D.</b>	Oxigênio Dissolvido
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>S</b>	<i>South</i> – Sul
<b>S.S.</b>	Sólidos Sedimentáveis
<b>S.T.</b>	Sólidos Totais
<b>SMART</b>	<i>Somatic Mutation and Recombination Test</i>
<b>TFQ</b>	Tratamento Físico-Químico
<b>V.M.P.</b>	Valor Máximo Permitido
<b>W</b>	<i>Oeste</i> – Oeste
<b>WHO</b>	World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL E RELEVÂNCIA DO TEMA .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>6</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>8</b>
3.1. Petróleo .....	8
3.2. Genotoxicidade .....	9
3.3. <i>Oreochromis niloticus</i> como organismo-teste .....	10
3.3.1. Teste de anormalidades nucleares em peixes .....	10
3.3.2. Teste do micronúcleo em peixes .....	11
3.4. Teste de aberrações cromossômicas em <i>Allium cepa</i> .....	12
3.5. Correlação Multivariada Canônica .....	13
3.6. Caracterização da área de estudo .....	14
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
4.1. Material .....	16
4.2. Métodos .....	18
4.2.1. Bioensaios com sementes de <i>Allium cepa</i> .....	18
4.2.2. Bioensaios com espécimes de <i>Oreochromis niloticus</i> .....	19
4.2.3. Dados meteorológicos .....	21
4.2.4. Análises físicas e químicas .....	21
4.2.5. Análises estatísticas .....	22
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
<b>Artigo 1. ....</b>	<b>24</b>
<i>“Caracterização, importância e uso de parâmetros físicos e químicos para avaliação da qualidade de águas – uma revisão.”</i>	
<b>Artigo 2 .....</b>	<b>62</b>
<i>“O uso de <i>Oreochromis niloticus</i> na avaliação do impacto de uma refinaria de petróleo, por meio de análises citogenéticas correlacionadas com caracterização meteorológica e dados físicos e químicos.”</i>	
<b>Artigo 3 .....</b>	<b>103</b>
<i>“Avaliação ambiental realizada por meio de análises citogenéticas, integradas a dados físicos, químicos e meteorológicos.”</i>	

<b>6. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>148</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>150</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL E RELEVÂNCIA DO TEMA

Ambientes aquáticos geralmente se tornam o destino temporário ou final de uma grande quantidade e variedade de contaminantes, que, quando tóxicos, afetam a flora e a fauna dos ecossistemas, podendo inclusive chegar ao ser humano por vias diretas (consumo de água) ou indiretas (alimentação) (BIANCHI et al., 2011). A poluição de ambientes dulcícolas vem, cada vez mais, se caracterizando como um problema sério e crescente. Sabe-se que, embora exista uma legislação apropriada que trata dessas contaminações de origem antrópicas, certos químicos lançados junto aos efluentes domésticos e industriais ainda se caracterizam como a principal fonte de contaminação dos ambientes aquáticos (GUPTA et al., 2014). Dentre esses contaminantes encontramos compostos químicos específicos bem como misturas complexas como metais e compostos metálicos, resíduos industriais orgânicos e inorgânicos, pesticidas e outros que, individualmente ou integrados, podem comprometer a qualidade do ecossistema (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009).

A poluição do meio ambiente decorrente de misturas complexas pode apresentar efeitos tóxicos diferentes daqueles já conhecidos para as substâncias isoladas. Beyer et al. (2014) chamam este fenômeno de efeitos combinados e, como a avaliação das substâncias geralmente é feita de modo isolado, o potencial da mistura acaba sendo negligenciada e seus efeitos subestimados. Por isso, quando ocorre uma mistura no meio ambiente, moléculas com modos de ação semelhantes ou diferentes podem interagir entre si e, assim, resultar em infinitas possibilidades de efeitos, derivados de respostas aditivas, sinérgicas ou antagonistas (BEYER et al., 2014). Isso é o que pode acontecer quando o petróleo e/ou seus derivados são lançados nos ecossistemas e se interagem com outros compostos naturais ou de origem antrópica já presentes neste ambiente.

De acordo com Macaulay; Rees (2014), o petróleo tornou-se um dos poluentes mais proeminentes nos países industrializados e em desenvolvimento, pela sua alta demanda global diária, que foi, por exemplo, de 85,62 milhões de barris, em 2008. Em 2013 foi registrado um consumo aproximado de 91,3 milhões de barris de petróleo por dia, somando um aumento de 1,4% em relação à média histórica (BP, 2014). Assim, da mesma forma que se intensificou o consumo do petróleo, também aumentou a preocupação com a contaminação ambiental promovida por este composto. O vasto uso dos produtos derivados do petróleo tanto pela indústria como pelos veículos automotores resultou em uma severa deterioração na qualidade do ar e da água (GUPTA et al. 2014). Atualmente, o petróleo e seus derivados são encontrados em todo o planeta, o que justifica o aumento da poluição mundial provocada por vazamentos de petróleo e por lançamentos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) nos ecossistemas aquáticos (VANZELLA et al. 2007).

As refinarias utilizam grandes quantidades de água durante o processo do refino de petróleo (a refinaria de petróleo de Paulínia/SP, Brasil, capta 0,67 m<sup>3</sup>/s de água do rio Jaguari – SAMPAIO, 2014), o que acabam gerando volumes consideráveis de efluentes. Comumente, o efluente gerado nas refinarias é tratado antes de seu lançamento no ambiente, o que promove a retirada da maioria dos contaminantes, embora uma quantidade significativa de substâncias tóxicas possam permanecer no efluente e acabar alcançando o meio ambiente (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009).

Pelo processo de refino do petróleo se obtém diversos derivados deste produto, tais como a gasolina, GLP, óleo diesel, óleos combustíveis, asfalto, querosene, nafta, enxofre e solventes (SOUZA; FONTANETTI, 2006). De acordo com El-Naas et al. (2014), durante as diferentes etapas do processo de produção desses derivados do petróleo são gerados diferentes tipos de poluentes: óleo livre, amônia, sulfetos, sólidos suspensos, fenóis, cloretos, mercaptanos e cianeto. Embora o tratamento do efluente realizado nas refinarias vise a remoção destes poluentes, por meio de floculação, flotação, tanques aerados, lodo ativado, biodiscos e tanques de clarificação, as substâncias mais presentes no lançamento são os HPAs, os fenóis e os metais (SOUZA; FONTANETTI, 2006).

A toxicidade do petróleo e de seus derivados é atribuída, principalmente, às suas frações solúveis, que contém substâncias polares de baixa massa molecular, como hidrocarbonetos monoaromáticos (benzeno, tolueno e xileno) e HPAs de pequeno peso molecular, cujo potencial genotóxico para organismos aquáticos já é bastante conhecido (VANZELLA et al., 2007). No entanto, diversos efluentes industriais possuem, além destes poluentes orgânicos, uma variedade

de metais, que podem ser tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, e que por serem persistentes no ambiente, prejudicam e afetam a saúde humana (PÉREZ et al., 2010).

Todas as substâncias químicas que podem interagir com a molécula de DNA e causar danos em sua estrutura são chamadas de agentes genotóxicos (NAGARATHNA et al., 2013). Porém, Dearfield et al. (2002) definem perfeitamente os termos “genotoxicidade” e “mutagenicidade”. De maneira simplificada, de acordo com estes autores, a genotoxicidade engloba todos os tipos de danos ao DNA (inclusive os mutagênicos), enquanto a mutagenicidade se restringe apenas à indução de alterações (mutações) nos cromossomos e seus genes. Entretanto, de maneira mais detalhada, Dearfield et al. (2002) determinam os agentes genotóxicos como aqueles que interagem com o DNA e/ou com os componentes celulares associados (como os fusos mitóticos) ou até mesmo com enzimas (ex. topoisomerase). Ainda segundo Dearfield et al. (2002), a indução de formação de adutos, quebras nas fitas e a síntese não programada de DNA, além da troca de cromátides irmãs, também fazem parte dos efeitos dos agentes genotóxicos. Já os agentes mutagênicos são aqueles capazes de induzir mudanças permanentes na estrutura ou no conteúdo do material genético de um organismo, que podem ser herdadas pelos seus descendentes (em células germinativas) ou dar origem ao câncer e a outras doenças crônicas degenerativas (em células somáticas). Deste modo, é possível resumir a genotoxicidade como resultado de um efeito potencialmente transitório, enquanto a mutagenicidade seria um resultado permanente. Nagarathna e colaboradores (2013) ainda ressaltam a diferença, dizendo que todo agente mutagênico é genotóxico, mas nem todo agente genotóxico é mutagênico.

A avaliação da genotoxicidade de efluentes industriais de refinarias, realizada por diversos tipos de bioensaios, confirmam a presença de muitas substâncias tóxicas, não identificadas ou não reguladas, que poderiam representar riscos à saúde em escalas desconhecidas (GUPTA et al., 2014). De acordo com Çavas; Ergene-Gözükara (2005b), vários testes são utilizados para verificar a qualidade de amostras de águas e, entre eles, o teste de AMES ainda é o mais utilizado. No entanto, de acordo com estes autores, este teste é baseado em organismos procariotos, sendo que, para que se possa inferir resultados à saúde humana com mais precisão, seria necessário utilizar organismos eucariontes.

Os organismos que respondem de maneira eficiente na identificação e no fornecimento de dados sobre as condições de um ambiente, incluindo a presença ou ausência de um contaminante, são denominados de indicadores biológicos ou bioindicadores (FRONTALINI; COCCIONI, 2011). Frontalini; Coccioni (2011) ressaltam que a União Europeia instituiu normas para verificar as condições dos corpos d'água europeus, baseadas em análises com bioindicadores como fitoplâncton, macroalgas, angiospermas, invertebrados bentônicos e peixes. Destes

bioindicadores, as aberrações cromossômicas (AC), anormalidades nucleares (AN) e a presença de micronúcleos (MN) são os biomarcadores mais frequentes, sendo indicados até mesmo para avaliação das condições de saúde de seres humanos (SAKLY et al., 2013).

As AC representam pequenos percentuais da grande quantidade de mudanças que acontecem no DNA cromossômico, as quais refletem na enorme plasticidade do genoma, que podem estar relacionadas com as características evolutivas de uma determinada espécie (OBE et al., 2002). Já as AN, inicialmente descritas por Carrasco et al. (1990), são alterações que podem ser induzidas por ação de contaminantes (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b; HOSHINA et al., 2008; GALINDO; MOREIRA, 2009; BENINCÁ et al. 2012). Por esta razão, a presença do micronúcleo é considerada um biomarcador bastante confiável para a identificação e quantificação de danos genotóxicos e mutagênicos promovidos por amostras ambientais ou em ambiente simulados por laboratório (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005a).

Na revisão realizada por Leme; Marin-Morales (2009), as espécies *Allium cepa* (cebola), *Vicia faba* (fava), *Zea mays* (milho), *Tradescantia*, *Nicotiniana tabacum* (tabaco), *Crepis capillaris* (barba-de-falcão) e *Hordeum vulgare* (cevada) são citadas como as mais utilizadas em avaliação ambiental. No entanto, segundo esses mesmos autores, dentre as espécies citadas, a espécie *A. cepa* destaca-se na identificação de danos cromossômicos e distúrbios no ciclo mitótico, além de ser altamente sensível na detecção de químicos ambientais. Atualmente existem trabalhos diversificados que utilizam *A. cepa* como organismo-teste, dentre eles, estudos de toxicidade (BARBÉRIO et al., 2009; HERRERO et al., 2012) e estudos de genotoxicidade e mutagenicidade (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; OLORUNFEMI et al., 2011; SOBRAL et al., 2013; SOUZA et al., 2013). Por meio da análise das células meristemáticas de cebola é possível avaliar *endpoints* (evidências) de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de diversas substâncias (FERNANDES et al., 2007; FERNANDES et al., 2009; ROBERTO, 2009; MAZZEO et al., 2010; MAZZEO et al., 2011; VENTURA-CAMARGO et al., 2011; PAKRASHI et al., 2014) e de amostras ambientais (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; RADIC' et al., 2010; ALVIM et al., 2011; BIANCHI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SOBRAL et al., 2013).

Nas últimas décadas, o uso de peixes como organismos-teste tornou-se popular, pois é tido como um dos modelos mais apropriados para o monitoramento de substâncias químicas presentes nos ecossistemas aquáticos (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b). Os peixes, além de serem muito susceptíveis aos efeitos de contaminantes aos quais são expostos nos ambientes aquáticos, eles respondem de maneira similar aos vertebrados superiores (MIR et al., 2014). Os parâmetros genotóxicos são os biomarcadores mais valiosos dos peixes para avaliação

ambiental, pois as alterações de origem genotóxicas permitem determinar com mais eficiência a contaminação de um ecossistema, mesmo que existam baixas concentrações de um poluente (SCALON et al., 2010). Dentre as espécies de peixes utilizadas, a espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) é utilizada por diversos grupos de pesquisa de todo o mundo (MATSUMOTO et al., 2006; HOSHINA et al., 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2010; MELO et al., 2014; BAMINI et al., 2014).



## 2. OBJETIVOS

Considerando o exposto anteriormente, e o fato da região estudada pertencer a uma importante bacia hidrográfica do estado de São Paulo, a Bacia dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiá (PCJ), que apresenta alta densidade demográfica e inúmeras indústrias ali instaladas, além da maior refinaria de petróleo do país (refinaria de Paulínia), este trabalho teve como objetivo realizar um monitoramento integrado e detalhado, sob o ponto de vista físico, químico e ecotoxicológico dos rios Jaguari e Atibaia e das águas servidas desta empresa do petróleo, situada em Paulínia-SP. Pela importância da área e dos recursos hídricos envolvidos e pela insuficiente fiscalização realizada pelos órgãos ambientais responsáveis, este trabalho buscou:

- Avaliar, por meio de análises químicas, as concentrações de alguns metais e de substâncias tóxicas presentes nos recursos hídricos sob influência da refinaria de petróleo, desde a captação no rio Jaguari, bem como das águas servidas da refinaria e do rio Atibaia, antes e após o lançamento do efluente da refinaria neste rio;
- Investigar o potencial citotóxico (análise de morte celular e índice mitótico), genotóxico (análise de aberrações cromossômicas) e mutagênico (análise de células micronucleadas) das amostras de água coletadas na área de influência da refinaria, em células meristemáticas do vegetal bioindicador *Allium cepa*;
- Investigar o potencial citotóxico (análise de morte celular), genotóxico (análise de anormalidades nucleares) e mutagênico (análise de células micronucleadas) das amostras de água, coletadas na área de influência da refinaria, em eritrócitos do peixe bioindicador *Oreochromis niloticus*;
- Investigar os impactos no rio Atibaia, por meio da exposição *in situ* de espécimes de *Oreochromis niloticus* em um ponto localizado a 200 metros a montante e outro localizado a 300 metros a jusante do local de lançamento do efluente da refinaria (rio Atibaia);

- Avaliar a eficiência do sistema de tratamento das águas servidas da refinaria de petróleo, por meio de testes químicos e biológicos e por testes adequados para análises multivariadas;
- Realizar uma análise integrada entre os dados físicos, químicos e ecotoxicológicos, para estimar as relações existentes entre esses dados com as atividades da refinaria e de outros prováveis contribuintes no impacto dos recursos hídricos estudados;
- Avaliar a correlação dos resultados biológicos com os resultados físicos e químicos, por meio de teste de correlação multifatorial canônica.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Petróleo

O petróleo e seus derivados têm sido considerados um dos maiores contaminantes da atualidade. Devido a sua extração, transporte e utilização como fonte primária de energia e como matéria-prima para diversos produtos, muitos pesquisadores têm estudado os possíveis impactos destes compostos sobre o ambiente e os seres humanos (MAZZEO et al., 2011). A contaminação do solo e das águas pelo petróleo, a partir de indústrias petroquímicas e outras atividades relacionadas, tem provocado desastres ecológicos e trazido preocupação com o ambiente e com a saúde pública (LIU et al., 2011).

O refino do petróleo é um processo essencial para converter sua forma bruta em subprodutos como gasolina, diesel e o gás liquefeito (SANTO et al., 2012). Durante o refino do petróleo bruto, é usada uma grande quantidade de água que gera um grande volume de efluente. Esse efluente, mesmo tratado, pode conter muitos compostos que apresentam um sério potencial poluidor, como fenóis, óleos e graxas, sulfetos, amônia, matérias orgânicas e inorgânicas (dissolvidas ou particuladas) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, mais conhecidos como HPAs (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; SANTO et al., 2012).

Os efluentes produzidos pela indústria do petróleo, pela toxicidade que apresentam, demandam tratamentos físicos e químicos, seguido de tratamento biológico, para poderem ser lançados em um recurso hídrico (SANTO et al., 2012). Porém, ainda que sejam tratados e alguns componentes sejam reutilizados pelas refinarias, o efluente final pode conter agentes genotóxicos (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b).

Estes compostos lançados no ambiente podem ser nocivos a biota local, provocando efeitos deletérios aos mesmos. Deste compostos, uma série deles é capaz de interagir com o

DNA, induzindo alterações em células somáticas e reprodutivas, o que pode comprometer a própria comunidade exposta a esses contaminantes, como também a sua descendência. Testes de genotoxicidade podem detectar a presença de compostos capazes de promover danos primários ao DNA dos organismos, cujos resultados podem servir de alerta para problemas ambientais futuros (SOUZA; FONTANETTI, 2012).

Embora o homem seja hoje dependente do petróleo, sua utilização traz riscos ao meio ambiente, desde o processo de extração, transporte e refino, até o consumo de seus derivados. Dentre as medidas aplicadas para reduzir o risco de uso do petróleo, está o monitoramento ambiental das regiões onde acontecem as diversas atividades petrolíferas, pois esta prática se caracteriza em uma estratégia importante para se avaliar os possíveis impactos ambientais associados a este setor.

### **3.2. Genotoxicidade**

A avaliação do risco ecológico de ecossistemas aquáticos tem sido, cada vez mais, incentivada, porque esses estudos são capazes de indicar os impactos que um ou mais agente estressor, como fatores físicos, químicos e biológicos, pode promover em um dado ecossistema (KANG et al., 2014).

Para a identificação de possíveis agentes genotóxicos ambientais, as agências regulatórias recomendam, no mínimo, dois ou três tipos de testes de genética toxicológica, para que sejam avaliados, pelo menos, dois mecanismos de danos genéticos como, por exemplo, mutações gênicas e danos cromossômicos (THYBAUD et al., 2007).

A avaliação dos contaminantes ambientais presentes nos recursos hídricos é feita por meio de testes desenvolvidos com bioindicadores genéticos, sendo geralmente utilizados diferentes organismos aquáticos, capazes de detectar os efeitos ambientais desses agentes tóxicos (LEMOS et al., 2007). Os peixes têm recebido grande destaque quanto ao seu uso como bioindicadores da poluição de recursos hídricos pois, além de representar o nível trófico final na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos, eles reagem, efetivamente, às mudanças ambientais. Por esta razão, os peixes são considerados excelentes bioindicadores, por serem sensíveis às alterações ambientais. Como esses organismos são dependentes do ambiente aquático para sobreviver, eles podem se expor continuamente a um dado agente genotóxico presente no recurso hídrico e, assim, apresentar alterações no seu material genético (LEMOS et al., 2007).

### 3.3. *Oreochromis niloticus* como organismo-teste

A análise de alterações no DNA dos organismos aquáticos tem se mostrado um método de alta confiabilidade para avaliar a presença de contaminantes no ambiente, pois uma grande diversidade de espécies reagem a baixas concentrações de poluentes (BIAGINI et al., 2009).

Segundo Mir et al. (2014), os peixes possuem uma grande habilidade em metabolizar xenobióticos e acumular poluentes e, além disso, eles participam diretamente da cadeia alimentar aquática, geralmente como o nível trófico mais superior do sistema.

Os peixes também apresentam uma variedade de biomarcadores, sendo que os parâmetros genotóxicos estão entre os mais valiosos para a avaliação do risco ambiental (SCALON et al., 2010). Estes organismos respondem aos agentes genotóxicos de maneira similar aos vertebrados superiores, o que os tornam ótimos organismos-teste para avaliar substâncias possivelmente genotóxicas, mutagênicas e carcinogênicas (LEMOS et al., 2007). De acordo com Kienzler et al. (2013) e Mir et al. (2014), os peixes são mais sensíveis à indução de danos genotóxicos e mutagênicos, pois possuem o sistema de reparo do DNA mais lento, quando comparados aos mamíferos. Isso os torna excelentes organismos sentinela para os estudos de monitoramento ambiental, quando há a intenção de avaliar a possível presença de contaminantes nos recursos hídricos (MIR et al., 2014).

De acordo com Biagini et al. (2009), a espécie *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) é comumente encontrada em diversos estuários do mundo. Estes peixes são particularmente importantes na região sudeste do Brasil, pois são muito comercializados e consumidos, principalmente no Estado de São Paulo. Esta espécie é também uma das mais utilizadas em estudos de genotoxicidade e mutagenicidade, devido à sua sensibilidade a diversas classes de contaminantes ambientais (SOUZA; FONTANETTI, 2012).

Os eritrócitos dos vertebrados inferiores, como os dos peixes, são nucleados e sofrem divisão celular durante sua circulação. Por isso, estas células são aplicáveis para a detecção de anormalidades nucleares (AN) e micronúcleos (MN), que podem ser imediatamente contados em lâminas de extensões sanguíneas (FUZINATTO et al., 2013).

#### 3.3.1. *Teste de anormalidades nucleares em peixes*

A presença de anormalidades nucleares (AN) nos eritrócitos de peixes representa um efeito genotóxico considerável (AZEVEDO et al., 2012) e pode complementar as informações obtidas pelo teste do micronúcleo (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005).

O teste de AN foi descrito pela primeira vez por Carrasco et al. (1990), que classificaram as alterações em células binucleadas, núcleos lobulados e núcleos do tipo *blebbed* e *notched*. No

entanto, devido à classificação parecer confusa e faltar padronização, Strunjak-Perovic et al. (2009) afirmam que esta classificação parece não ter sido bem aceita pela comunidade científica. Contudo, apesar de algumas contradições, diversos trabalhos avaliam a frequência de AN como parâmetro de genotoxicidade (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b; SOUZA; FONTANETTI, 2006; HOSHINA et al., 2008; AZEVEDO et al., 2012; MELO et al., 2014).

As causas da formação das AN ainda não são completamente conhecidas mas, de acordo com Özkan et al. (2011), a ocorrência das AN pode estar relacionada a uma tentativa da célula eliminar do núcleo qualquer material genético amplificado. As células portadoras de AN podem estar associadas a eventos de aneuploidia, originadas, provavelmente, da falha na síntese de tubulinas ou ainda da ação de substâncias aneugênicas, que comprometem a formação do fuso mitótico (ÖZKAN et al., 2011).

### 3.3.2. *Teste do micronúcleo em peixes*

O micronúcleo (MN) é considerado uma massa de cromatina presente no citoplasma com a aparência de um pequeno núcleo, que deriva de fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros, perdidos durante a divisão celular. Como são derivados de aberrações cromossômicas estruturais e numéricas, seu aparecimento pode ser decorrente de efeitos aneugênicos ou clastogênicos, promovidos por uma ampla variedade de agentes físicos, químicos e biológicos (SERIANI et al., 2012).

O teste do micronúcleo é considerado um ensaio citogenético, pois leva em consideração a evidência de danos cromossômicos ocorridos na célula, por meio de experimentos desenvolvidos em testes *in vivo* e *in vitro*. Geralmente, os cromossomos de peixes e de outros organismos aquáticos são relativamente pequenos em tamanho, mas grandes em número, o que torna difícil a análise de aberrações cromossômicas (OHE et al., 2004).

Entre os diversos protocolos existentes para avaliar os efeitos genotóxicos em peixes, o teste do MN ganha destaque pela sua facilidade de aplicação e interpretação (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b). Este ensaio tem sua importância, devido à sua rapidez, sensibilidade e confiabilidade, além de não necessitar de equipamentos e reagentes onerosos para a sua realização. Quando o teste é realizado com sangue periférico, e o material é corado pela reação de Feulgen, a frequência de micronúcleo pode ser rapidamente avaliada por meio do uso de um microscópio de luz, geralmente em um aumento de 1.000X (FONTANETTI et al., 2010).

Os critérios de análise do MN foram padronizados por Fenech et al. (2003), que determinam que o MN deve ter o diâmetro entre 1/16 e 1/3, em relação ao diâmetro do núcleo principal, deve ter formato redondo ou oval, não pode ser refringente e deve ser facilmente

diferenciado de um artefato derivado da coloração, não pode estar ligado ou conectado ao núcleo principal e ainda deve estar bem delimitado, sem sobrepor ou tocar o núcleo principal.

O teste do MN não consiste apenas na mera observação das frequências de células micronucleadas, mas sim na variação destas frequências, principalmente quando diferentes amostras de material estão sendo avaliadas. Normalmente, essa comparação é feita entre animais “controle”, cujas condições e meio de exposição são controlados, e animais “expostos”, que são aqueles submetidos ao alvo do estudo (ex. águas coletadas nos recursos hídricos, substâncias químicas e agentes físicos, alimentos, entre outros) (UDROIU, 2006).

Devido à facilidade de realização do teste do micronúcleo, este ensaio tem sido utilizado por diversos pesquisadores, com o sistemas-teste de peixes, para diferentes propósitos, o que o torna válido e recomendado para estudos de genotoxicidade e mutagenicidade (RODRIGUEZ-CEA et al., 2003; ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005b; MATSUMOTO et al., 2006; HOSHINA et al., 2008; ÖZKAN et al., 2011; AZEVEDO et al., 2012; SERIANI et al., 2012; FUZINATTO et al., 2013; MELO et al., 2014).

### **3.4. Teste de aberrações cromossômicas em *Allium cepa***

Dentre as espécies de vegetais superiores utilizadas em estudos de avaliação de genotoxicidade, *Allium cepa* se destaca nos testes de danos cromossômicos e distúrbios no ciclo mitótico, por possuir cromossomos grandes e em pequena quantidade ( $2n=16$ ) e mostrar grande sensibilidade na detecção de substâncias químicas ambientais (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Ainda segundo esses autores, essa espécie pode ser usada para avaliação de vários efeitos toxicológicos, como os de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, de amostras ambientais e substâncias químicas isoladas.

As aberrações cromossômicas (AC) são caracterizadas por mudanças tanto na estrutura cromossômica quanto no número total de cromossomos, podendo ocorrer espontaneamente nas células ou ser induzidas por agentes externos. As alterações estruturais podem ser derivadas de quebras, inibição na síntese ou na replicação errada do DNA, enquanto as alterações numéricas podem ser oriundas da segregação anormal dos cromossomos (ALBERTINI et al., 2000).

A análise das AC não é tão simples, devido às diferentes fases do ciclo de divisão celular, mas de acordo com Leme; Marin-Morales (2009), existem protocolos que delimitam a análise, baseando-a apenas em anáfase e telófase. No entanto, o protocolo inicialmente proposto determina a análise de todas as fases, e isso permite uma melhor investigação dos efeitos provocados pela amostra testada, pois pode indicar atividades clastogênicas ou aneugênicas, e ainda indicar alterações no desenvolvimento do organismo-teste (BOLLE et al., 2004).

Resumidamente, AC como pontes e quebras cromossômicas são indicativos de ação clastogênica, enquanto perdas, atrasos e aderências cromossômicas, multipolaridade e C-metáfases são resultantes de ação aneugênicas (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Nos trabalhos de Fernandes et al. (2007; 2009), os autores demonstraram a atividade aneugênica do herbicida trifluralina, por meio do organismo-teste *Allium cepa*. Neste trabalho, foram analisadas as células durante todo o ciclo celular, o que permitiu inferir quais foram os mecanismos de ação do agente químico sobre a estabilidade celular. Já no trabalho de Bolle et al. (2004), os autores investigaram o potencial clastogênico da atrazina sobre o sistema-teste de *A. cepa*, simplesmente analisando as alterações encontradas durante a metáfase, anáfase ou telófase. Estes resultados corroboram a informação divulgada por Leme; Marin-Morales (2009), sobre as formas de análise dos resultados e a relação dos mesmos com os mecanismos de ação.

São diversos os usos do sistema-teste de *A. cepa* para a análise de AC e MN, que vão desde estudos de substâncias isoladas (ex. herbicidas, pesticidas) (FERNANDES et al., 2009; BOLLE et al., 2004; FERETTI et al., 2007), passando por compostos naturais (ex. própolis) (ROBERTO, 2009; SOLIMAN, 2001) até amostras ambientais (ex. águas superficiais, lodo de esgoto, material lixiviado, solo contaminado) (SRIVASTAVA et al., 2005; CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; BIANCHI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SOBRAL et al., 2013; KLAUCK et al., 2013), o que torna este sistema-teste bastante confiável com *endpoints* reconhecidos.

### 3.5. Correlação Multivariada Canônica

A análise da correlação canônica (CCa) é vista como o teste multivariado equivalente ao uso da análise por regressão, pois apresenta várias respostas ao invés de resposta única. Neste teste, as variáveis são separadas em dois grupos correlacionados entre si, apresentando como resultado valores que determinam o grau de correlação entre cada parâmetro de cada grupo (SPARKS et al., 1999).

Chen et al. (2003) utilizaram a CCa para investigar a relação entre a toxicidade de um solo, quanto à concentração de metais pesados, e seus efeitos nas variáveis biológicas da planta de trigo. Os autores concluíram, a partir dos resultados da correlação, que quanto maior for a concentração dos metais no solo, maior será o efeito tóxico sobre os vegetais a ele expostos. Pelo fato de este resultado ser coerente, os autores sugerem a implantação desta metodologia para qualquer tipo de avaliação ambiental, desde que as multivariáveis tenham um papel importante na qualidade do ambiente e estejam relacionados com a origem dos efeitos biológicos na biota.



No trabalho de Cao et al. (1999), os autores testaram a correlação multivariada entre dois grupos de parâmetros físicos e químicos, obtidos para as águas de rios do Canadá, a fim de tentar sugerir uma regulamentação mais eficiente no controle da qualidade dos recursos hídricos. No entanto, apesar de terem obtido boas correlações, os autores sugeriram bastante cautela na forma de interpretação dos resultados. Muitas vezes os padrões de qualidade de água são baseados apenas em uma espécie testada, e isso pode ser insuficiente para proteger toda uma população ou comunidade aquática, além de diferentes regulamentações serem encontradas para diferentes regiões ou países.

Vialle et al. (2011) também utilizaram-se de correlações multivariadas para tentar determinar os principais responsáveis pela contaminação de águas das chuvas recuperadas por sistemas de captação instalados em telhados. Deste modo, os autores concluíram que três grupos principais de parâmetros devem ser analisados, para se assegurar a ausência de contaminantes nas amostras de água.

Alguns pesquisadores têm criticado a análise multivariada, pois raramente geram resultados que condizem com o bom-senso do conhecimento (FORE et al., 1996). Enquanto isso, outros sugerem que a análise multivariada pode ser uma ferramenta útil nos estudos de ecotoxicologia e da qualidade dos ambientes, por auxiliar na indicação de quais parâmetros mais interferem na biota, e, por isso, deve ser melhor estudada (CAO et al., 1999; CHEN et al., 2003; VIALLE et al., 2011).

### **3.6. Caracterização da área de estudo**

A refinaria de petróleo está localizada na cidade de Paulínia e foi inaugurada em 1972, na área de uma antiga fazenda, a 118 km da capital do Estado de São Paulo, entre os rios Jaguari e Atibaia (PETROBRAS, 2014). Estes rios estão fazem parte da Bacia dos rios Piracicaba, Jundiá e Capivari, conforme ilustrado na figura 1.

A área de abrangência das Bacias dos rios Piracicaba, Jundiá e Capivari (PCJ) compreende uma área hidrográfica de 15.303,67 km<sup>2</sup>, com mais de 90% dela pertencente ao estado de São Paulo e o restante localizado no estado de Minas Gerais (CBH-PCJ, 2013).

**Figura 1** – Localização da refinaria de petróleo, localizada em Paulínia/SP, entre os rios Jaguari e Atibaia.



Fonte: elaborado pelo autor.

As águas do rio Jaguari nascem no estado de Minas Gerais, nos municípios de Sapucaí-Mirim, Camanducaia e Itapeva. Sua bacia atravessa quatro municípios mineiros e quinze paulistas, tornando este um rio Federal, que flui do leste para o oeste do país. Ao entrar no território paulista, o rio é represado para integrar o Sistema Produtor de Água Cantareira, responsável por abastecer nove milhões de habitantes da região metropolitana de São Paulo (CBH-PCJ, 1997).

Já o rio Atibaia percorre 16 municípios paulistas, dos quais poucos possuem sistema de tratamento de esgoto, e atravessa uma área de intenso desenvolvimento populacional, industrial e agrônomo, que usa intensamente as suas águas. A região de Paulínia, além de abrigar a maior refinaria de petróleo brasileira, também é ocupada por diversas indústrias (ex. químicas e de fabricação de papel). Este rio, contudo, é fonte de abastecimento de diversas cidades da região como, Sumaré e Paulínia (CBH-PCJ, 1997). Essa combinação de contaminantes e poluentes gerados pelas atividades antrópicas deixa o rio Atibaia comprometido, quanto à manutenção da sua biota.

Quando o rio Jaguari encontra-se com o rio Atibaia, é formado, na cidade de Americana/SP, o rio Piracicaba, cujo curso segue passando pela cidade de Limeira até o município de Barra Bonita/SP, onde encontra-se com o rio Tietê. Deste modo, é possível inferir que o rio Piracicaba é ainda mais comprometido na qualidade de suas águas, pois recebe águas contaminadas na sua formação e efluentes não tratados durante o seu curso.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Material

Os materiais avaliados neste trabalho foram amostras de águas coletadas nos rios Jaguari e Atibaia, bem como de amostras de água servidas da refinaria de Paulínia-SP.

Durante os anos de 2009, 2010, 2011, 2012 e 2013 foram realizadas dezoito coletas de água referentes ao total de 16 estações sazonais, conforme o quadro 1.

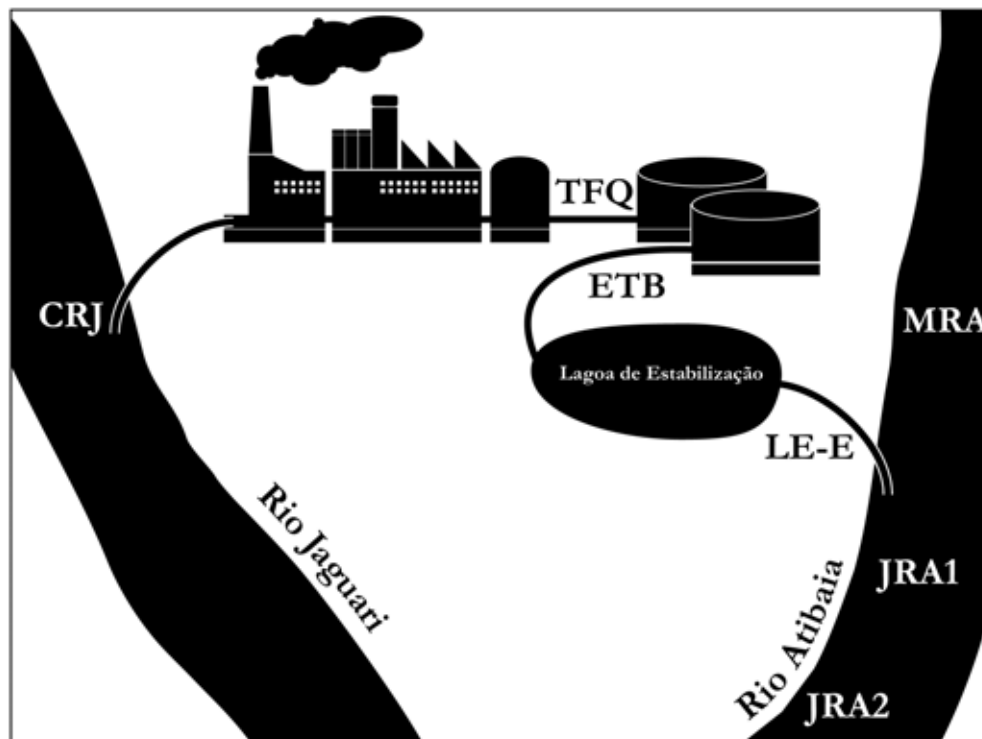
**Quadro 1** – Coletas de água realizadas no entorno e no interior da refinaria de petróleo e respectivos organismos-teste utilizados.

Ano	Estação	Data de Coleta	Organismo-teste	
			<i>A. cepa</i>	<i>O. niloticus</i>
2009	Primavera	21 de outubro	✓	-
2010	Verão	10 de fevereiro	✓	-
	Outono	10 de maio	✓	-
	Inverno	02 de agosto	✓	-
	Primavera	25 de outubro	✓	-
2011	Verão	14 de março	✓	-
	Outono	09 de maio	✓	-
	Inverno	04 de julho	✓	-
	Primavera	05 de dezembro	✓	✓
2012	Verão	30 de janeiro	✓	✓
	Outono	17 de abril	✓	✓
	Inverno	18 de julho	-	✓
		25 de julho	✓	-
	Primavera	23 de outubro	✓	✓
2013	Verão	01 de fevereiro	✓	✓
	Outono	17 de maio	✓	-
		16 de julho	-	✓
	Inverno	27 de agosto	✓	-

Fonte: elaborado pelo autor.

Para a coleta das águas, foram estabelecidos sete pontos de coleta no entorno e no interior da refinaria, conforme apresentado na figura 2.

**Figura 2** – Esquema representando a localização da refinaria de petróleo de Paulínia/SP, entre os rios Jaguari e Atibaia.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

CRJ - área de captação de água da refinaria no rio Jaguari; TFQ - saída do tratamento físico-químico e entrada do tratamento biológico; ETB - saída da estação de tratamento biológico e entrada da lagoa de estabilização; LE-E - saída da lagoa de estabilização (efluente tratado da refinaria); MRA - área do rio Atibaia a 200 metros a montante do local de despejo do efluente (este também serviu para a exposição do experimento *in situ*); JRA1 - área do rio Atibaia a 300 metros a jusante do local de despejo do efluente (este também serviu para a exposição do experimento *in situ*); JRA2 - área do rio Atibaia a 800 metros a jusante do local de despejo do efluente.

As referências geográficas dos pontos de coleta podem ser observadas no quadro 2.

**Quadro 2** – Localização geográfica dos pontos de coleta.

Ponto	Latitude (S)	Longitude (W)
CRJ	22° 69' 66"	47° 12' 28"
TFQ	22° 44' 18.5"	47° 07' 22.5"
ETB	22° 44' 46"	47° 07' 22"
LE-E	22° 44' 42"	47° 07' 26"
MRA	22° 44' 46"	47° 07' 22"
JRA1	22° 44' 27"	47° 07' 33"
JRA2	22° 44' 22.3"	47° 07' 40.8"

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Dados obtidos no equipamento GPS Garmin eTrex (Garmin Ltd.).

Os materiais biológicos constituíram-se de sementes de *Allium cepa* (cebola), da variedade baía periforme, de lotes testados pelo fabricante ISLA Sementes Ltda. (Porto Alegre/RS – Brasil), com índice de germinação maior que 90%, e por espécimes de *O. niloticus* (tilápia) obtidos em pisciculturas certificadas da região de Rio Claro/SP e mantidos nos tanques localizados no Jardim Experimental do Instituto de Biociências da UNESP, até seu processamento.

## 4.2. Métodos

### 4.2.1. Bioensaios com sementes de *Allium cepa*

Os ensaios com *A. cepa* foram desenvolvidos expondo 100 sementes, de maneira contínua, em placas de Petri recobertas com papel de filtro embebido com as amostras de águas coletadas no entorno e no interior da refinaria, ao controle positivo (metilmetano sulfonato - MMS) e ao controle negativo (CN - água ultra pura). As placas foram mantidas em estufas incubadoras com temperatura controlada a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , até a germinação das sementes e crescimento das radículas a aproximadamente 1,5 cm de comprimento. Foram utilizados aproximadamente 5 mL das amostras durante todo o período de germinação, assim como foram utilizados 5 mL de água ultrapura para o CN e 5 mL da solução de MMS para o CP.

Quando as radículas atingiram o tamanho ideal, elas foram coletadas e fixadas em Carnoy I (álcool/ácido acético - 3:1 v/v) por 24 horas, hidrolisadas em HCl 1N a  $60^\circ\text{C}$ , por oito minutos e, imediatamente, submetidas à coloração em reativo de Schiff, por duas horas. Após a coloração, foram confeccionadas 15 lâminas com os meristemas, contracorados com uma gota de carmin-acético (2%). As lâminas foram recobertas com lamínula e os meristemas prensados suavemente para um melhor espalhamento do material. As lamínulas foram retiradas por meio do congelamento em uma rápida imersão em nitrogênio líquido e, após secagem *overnight*, as lâminas foram montadas com resina sintética, para serem, posteriormente, analisadas.

Os testes controle foram desenvolvidos a partir da germinação das sementes em água ultrapura (controle negativo - CN) e em solução aquosa de metilmetano sulfonato (MMS, Sigma-Aldrich, CAS 66-27-3 / controle positivo – CP) a  $4 \times 10^{-4}\text{M}$ .

#### 4.2.1.1. Análise dos resultados

Para a análise das aberrações cromossômicas e nucleares (AC), foram considerados diferentes tipos de anormalidades (perdas, fragmentos, pontes, atrasos cromossômicos entre outros) nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase, telófase). No entanto, as diferentes aberrações encontradas foram reunidas em um só grupo, considerado como *endpoint* de genotoxicidade. Para avaliar os efeitos mutagênicos, foram contabilizadas células

micronucleadas (MN). O índice mitótico (I.M.), relacionado com o número de células em divisão e a frequências de células em processo de morte celular (citoplasma e/ou núcleo vacuolizado, núcleo heteropicnótico, entre outros), serviram como critério de avaliação de citotoxicidade, constituindo um terceiro parâmetro de avaliação. O índice mitótico foi calculado pela razão entre o número total de células em divisão contabilizadas e o total de células observadas, cujo resultado foi multiplicado por 100 para a obtenção da porcentagem deste índice.

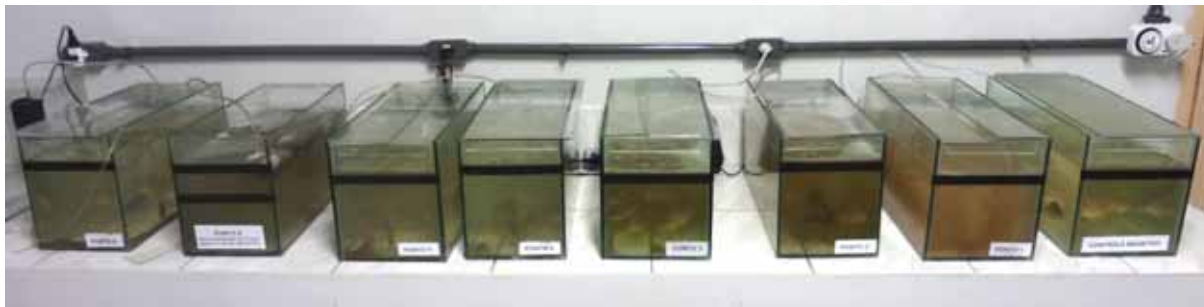
A análise destes parâmetros se deu pela contagem de cerca de 500 células por lâmina, em microscópio de luz (aumento de 400X), sendo dez lâminas para cada ponto de coleta, totalizando 5.000 células por amostra avaliada.

#### 4.2.2. Bioensaios com espécimes de *Oreochromis niloticus*

Os espécimes juvenis de *O. niloticus*, de aproximadamente 10 cm de comprimento, adquiridos em pisciculturas com comprovação de qualidade dos peixes, foram aclimatados e mantidos nos tanques do Jardim Experimental do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Rio Claro/SP, onde foram alimentados com ração específica e submetidos à água aerada e livre de cloro. Como estes tanques encontram-se dentro de estufas vegetativas, a temperatura ambiente manteve-se em torno de  $22\pm 4^{\circ}\text{C}$ .

Para a realização dos experimentos, foram montados oito grupos experimentais (CN e sete amostras ambientais – Figura 3), com sete peixes aclimatados em aquário com a capacidade de 20 litros e mantidas no Biotério do mesmo instituto, a  $26^{\circ}\text{C}$ , por 72 horas, com fotoperíodo de 12 horas de claro/escuro. O CN foi realizado com água do poço artesiano da UNESP, tratada mas livre de cloro. Devido à conhecida toxicidade das águas proveniente do ponto TFQ, devido à análises anteriores, as amostras foram diluídas em água de poço artesiano na proporção de 2:1 (v/v - água de poço/amostra). Embora não tenha sido realizado um controle positivo, estudos anteriores demonstram a sensibilidade do organismo-teste para este tipo de avaliação (SOUZA; FONTANETTI, 2006; 2012; HOSHINA et al., 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2010; MELO et al., 2014).

**Figura 3** – Aquários utilizados para a exposição dos espécimes de *O. niloticus*, durante o período de 72 horas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Além da exposição realizada em aquários, houve a exposição *in situ*, por 72 horas, onde dez espécimes de *O. niloticus* foram colocados diretamente em dois pontos do rio Atibaia: um a montante (na mesma área do ponto MRA) e outro a jusante (na mesma área do ponto JRA1). O transporte dos peixes foi feito por meio de caixas especiais, com aeração constante, tanto para a colocação quanto para a retirada dos peixes do local.

Todas as exposições foram realizadas com um número amostral superior (sete espécimes para a exposição *ex situ* e dez para a exposição *in situ*), suficiente para garantir um mínimo de cinco peixes para cada amostra coletada ou para cada exposição *in situ*.

Decorridas 72 horas de exposição, os peixes foram submetidos à punção cardíaca, para coleta de amostras de sangue, utilizando-se seringas descartáveis de volume de 1 mL, previamente puncionadas com anticoagulante (heparina sódica – CAS 9041-08-1 – 5.000 UI/mL). Os peixes submetidos à exposição *in situ* foram adequadamente transportados até o laboratório para seu processamento. Após a retirada do sangue, os animais foram acondicionados em gelo e, posteriormente, em freezer para realização do descarte adequado, enquanto as seringas foram protegidas da luz e acondicionadas em gelo, até a confecção das lâminas.

As lâminas foram confeccionadas por meio de extensões sanguíneas, sendo a primeira gota descartada, para evitar contaminação do material. Foram realizadas 4 extensões sanguíneas para cada espécime, que foram fixadas em etanol absoluto por dez minutos. Após o período de secagem de 24 horas, as lâminas foram submetidas à hidrólise ácida em HCl 1N a 60°C, por 11 minutos e, imediatamente, submetidas ao reativo de Schiff por duas horas. Depois de coradas, as lâminas foram lavadas para se retirar o excesso do reativo e para interromper a reação.

#### 4.2.2.1. Análise dos resultados

As análises de anormalidades nucleares foram baseadas nos critérios estabelecidos por Carrasco et al. (1990). Porém, foi feita uma modificação na nomenclatura para o português e na

caracterização das anormalidades, devido à falta de padronização por parte dos autores citados e pelo fato da classificação não ter sido bem aceita pela comunidade científica (STRUNJAK-PEROVIC et al., 2009). Deste modo, as células portadoras de invaginações, evaginações, brotos nucleares e as células binucleadas foram consideradas evidências de danos genotóxicos. Células portadoras de núcleo heteropicnótico, de vacuolização de núcleo ou de citoplasma ou de fragmentação nuclear foram consideradas como evidências de eritrócitos em processo de morte celular, caracterizando em citotoxicidade. Sendo assim, apenas as células portadoras de micronúcleos (MN) foram consideradas como com característica de mutagenicidade.

A análise destes parâmetros se deu pela contagem de 3 lâminas por espécime, gerando um total de 1.500 eritrócitos (500 células por lâmina), com um total de 7.500 células analisadas por amostra de água de cada ponto de coleta. Os eritrócitos foram analisados em microscópio de luz, em aumento de 1.000X.

#### 4.2.3. *Dados meteorológicos*

Os dados meteorológicos, relativos às datas das coletas das amostras de água, foram obtidos junto à Estação Meteorológica do Centro de Análise e Planejamento Ambiental (CEAPLA/IGCE/UNESP), Rio Claro/SP.

#### 4.2.4. *Análises físicas e químicas*

As análises físicas e químicas foram realizadas pelo Centro de Estudos Ambientais (CEA), que é uma unidade complementar da UNESP, campus de Rio Claro/SP, e pelo Laboratório de Toxicidade de Águas, pertencente ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia, do Instituto de Biociências deste mesmo campus da UNESP.

As coletas das amostras seguiram as normas da ABNT-NBR 9898, inclusive foram seguidas as normas de segurança pessoal, com o uso de luvas, máscara, óculos, botas de borracha e colete salva-vidas.

Para as análises físicas e químicas e para os ensaios biológicos foram utilizados galões de polietileno de 10 L, com 10 amostragens de cada ponto para obtenção de amostra composta (maior representatividade). O material para análise do oxigênio dissolvido foi coletado separadamente em frascos de vidro borossilicato, mantido sob baixa temperatura, com o uso de gelo.

O material para análise microbiológica foi coletado, separadamente, em frascos de vidro com tampa de polipropileno contendo tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  - 100 mg/L ou 0,1 mL de uma solução a 10%), usado como agente redutor para impedir a ação de cloro e outros



halogênios. Para neutralizar os metais cobre ou zinco ( $> 1,0$  mg/L) acrescentou-se 372 mg/L de solução de sódio de etileno diamino tetra acético (EDTA), em pH 6,5, antes do uso. O tiosulfato de sódio e a solução de EDTA foram previamente adicionados antes da esterilização dos frascos. Durante a coleta, os frascos foram agitados para dissolução dos sais, sendo as amostras preservadas a  $10^{\circ}\text{C}$  e processadas após 3 horas.

Para a realização da análise de íons, as amostras foram acidificadas com  $\text{HNO}_3$  até pH  $< 2,0$  (1,5 mL  $\text{HNO}_3$ /L de amostra). Após acidificação, as amostras foram estocadas a  $4^{\circ}\text{C}$  para prevenir a alteração de volume por evaporação. Nestas condições as amostras ficam estáveis por até 6 meses (para a análise de mercúrio recomendam-se apenas 5 semanas), mas, como a concentração de metais geralmente é baixa, as amostras foram analisadas rapidamente.

#### 4.2.5. Análises estatísticas

Após a obtenção dos resultados, os valores obtidos foram corrigidos, proporcionalmente, para se estabelecer uma referência exata entre as diferentes contagens para um valor de 500 células contadas por lâmina analisada (cálculo realizado por regra de três simples). Foi realizado este procedimento para que a análise estatística ficasse mais ajustada à realidade. Estes valores corrigidos foram utilizados apenas para a análise estatísticas. Já os gráficos e/ou tabelas foram determinados com as frequências dos resultados obtidos na análise.

Para a avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das amostras de águas de uma mesma estação do ano, foi usado, o software GraphPad Prism 6.00 para Mac OS X (GraphPad Software – La Jolla, California, EUA), e realizados os testes estatísticos de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn de comparação múltipla, com a confiabilidade de 95% ( $p < 0.05$ ). Para a exposição *in situ* foi utilizado o teste de Mann-Whitney, com a confiabilidade de 95% ( $p < 0.05$ ).

Por fim, os dados de citotoxicidade, genotoxicidade e de mutagenicidade, de ambos os organismos-testes (*A. cepa* e *O. niloticus*) foram submetidos à análise de correlação multivariada canônica (CCa), correlacionando-os com os dados físicos e químicos ou com os dados meteorológicos, para se determinar os possíveis indutores das alterações. A análise por CCa foi feita com o software XLSTAT© versão 2014.4.09 (Addinsoft SARL – Paris, França), incorporado como macro ao Microsoft Excel® versão 2011 para Mac OS X (Microsoft Corporation – Redmond, EUA).

## 5. RESULTADOS

**ARTIGO 1 – “Caracterização, importância e uso de parâmetros físicos e químicos para avaliação da qualidade de águas – uma revisão.”**

Matheus Mantuanelli Roberto e Maria Aparecida Marin-Morales.

**ARTIGO 2 – “O uso de *Oreochromis niloticus* na avaliação do impacto de uma refinaria de petróleo, por meio de análises citogenéticas correlacionadas com caracterização meteorológica e dados físicos e químicos.”**

Matheus Mantuanelli Roberto, Cristiane Sueli Talhiaferro de Araújo, Nádia Aline Corroqué, Leonardo Ramos Anacleto, Márcia Miyuki Hoshina, Dejanira de Franceschi de Angelis, Maria Aparecida Marin-Morales.

**ARTIGO 3 – “Avaliação ambiental realizada por meio de análises citogenéticas, integradas a dados físicos, químicos e meteorológicos.”**

Matheus Mantuanelli Roberto, Raquel Vaz Hara, Maria Tereza Pamplona Silva, Michele Perisatto Berreta, Laís Roberta Deroldo Sommaggio, Dânia Eliza Christofolletti Mazzeo, Dejanira de Franceschi de Angelis, Maria Aparecida Marin-Morales.

**ARTIGO 1****“Caracterização, importância e uso de parâmetros físicos e químicos para avaliação da qualidade de águas – uma revisão.”**

Matheus Mantuanelli Roberto<sup>1</sup> e Maria Aparecida Marin-Morales<sup>1\*</sup>

1. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro/SP.

\*Autor correspondente: Avenida 24 A, 1515, Bela Vista, 13.506-900, Rio Claro/SP. E-mail: mamm@rc.unesp.br, TEL. +55 19 35264143.

## Resumo

A água é um recurso natural escasso no mundo, mas é essencial para a manutenção da vida. Os recursos hídricos estão sofrendo a intensa influência das atividades antrópicas, tornando raros os ambientes aquáticos isentos de alterações na qualidade de suas águas e que possam ser utilizados com segurança. Na tentativa de evitar a contaminação e recuperar os ambientes impactados, o homem utiliza ferramentas físicas, químicas e biológicas para detectar os danos causados a um corpo d'água e, conseqüentemente, à saúde ambiental e humana. Os parâmetros físicos e químicos são vastamente utilizados em análises ambientais, porém pouco explorados quanto aos seus reais significados em relação à biota. A poluição altera as características naturais dos recursos hídricos e o monitoramento do ecossistema permite inferir a origem, as causas e os meios de remoção dos diferentes contaminantes. Geralmente, são avaliados os parâmetros como o pH, temperatura, demanda química de oxigênio, oxigênio dissolvido e demanda bioquímica de oxigênio, entretanto, estes e outros parâmetros não devem ser considerados isolados. Informações sobre as alterações nas características da água ajudam a estabelecer tendências e padrões de contaminação, assim como permitem estimar os efeitos sobre os organismos vivos. Deste modo, o objetivo desta revisão foi trazer algumas destas informações e servir como uma ferramenta aos pesquisadores da área da ecogenotoxicologia.

**Palavras-chaves:** pH, temperatura, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido, demanda química de oxigênio e demanda bioquímica de oxigênio.

## 1. Introdução

A poluição pode ser definida como uma alteração capaz de promover a degradação de um ecossistema, por meio da remoção ou introdução, direta ou indireta, de substâncias resultantes de atividades humanas, que causam efeitos deletérios aos recursos biológicos, riscos à saúde humana, impedimento de atividades aquáticas (como a pesca e aquicultura) e perda da qualidade de água para o uso na agricultura, na indústria e em outras atividades econômicas (CHAPMAN, 1996).

Os recursos hídricos têm sofrido intensas interferências antrópicas, que têm culminado na poluição e comprometimento da sua qualidade. A deterioração dos ambientes aquáticos tem se caracterizado em um dos maiores problemas mundiais, sendo que o maior responsável por esta contaminação são os lançamentos de efluentes domésticos e industriais sem tratamento (OLIVEIRA et al., 2012).

A poluição aquática está diretamente relacionada a riscos e danos à saúde, devido a ação de substâncias tóxicas, muitas delas mutagênicas, que podem induzir doenças em humanos, como o câncer, a aterosclerose, doenças cardiovasculares e envelhecimento precoce (RADIC' et al., 2010). O trabalho de Santos et al. (2013) demonstra, ainda, que a presença de substâncias genotóxicas em corpos d'água seriam capazes de induzir o aumento da mortalidade dos peixes juvenis, além de provocar o aumento da taxa de anormalidades durante o desenvolvimentos dos alevinos.

Para a avaliar os riscos que a contaminação da água promove sobre os organismos e quais os componentes presentes nos corpos hídricos que possam causar danos ao ecossistema, é necessário realizar uma bateria de bioensaios, combinados com análises físicas e químicas (ŽEGURA et al., 2009).

Alguns parâmetros físicos e químicos são utilizados, rotineiramente, para o monitoramento da qualidade de águas. Geralmente, são avaliados parâmetros como o pH, temperatura, demanda química de oxigênio (D.Q.O.), oxigênio dissolvido (O.D.) e demanda bioquímica de oxigênio (D.B.O.) (OLIVEIRA et al., 2012). Por meio destas avaliações, torna-se possível realizar, em locais e períodos definidos, um bom monitoramento ambiental, para se estimar a possibilidade de estabelecer tendências de impactos ambientais ou padrões de contaminação (CHAPMAN, 1996). No entanto, faltam informações suficientes que ajudem a elucidar o significado dos valores encontrados por uma análise de água, para que se possa relacioná-los com segurança ambiental, isto é, relacioná-la com os possíveis efeitos sobre os organismos vivos. Deste modo, o objetivo desta revisão é trazer informações sobre as interações possíveis entre parâmetros físicos, químicos e ecotoxicológicos para que os pesquisadores da área do monitoramento ambiental e da ecogenotoxicologia possam explorar, com maior embasamento científico, os resultados obtidos em suas análises.

## **2. Parâmetros físicos**

### **2.1. Cor verdadeira, cor aparente e transparência**

De acordo com Chapman (1996), a cor verdadeira dos recursos hídricos está relacionada com a presença de minerais e substâncias orgânicas naturalmente presentes na água. Já a cor aparente é aquela decorrente da presença de partículas coloridas introduzidas na água, que, quando incididas pela luz, levam a uma alteração na refração e reflexão da luz. A cor de uma amostra de água está associada, então, ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessá-la, devido à presença de sólidos dissolvidos, principalmente material em estado coloidal orgânico e inorgânico. Os coloides conferem cor ao corpos hídricos e são encontrados na forma

de ácidos húmico e fúlvico, resultantes da decomposição natural e parcial de compostos orgânicos presentes nos vegetais e outros substratos (CETESB, 2014). Estes compostos ainda podem ser encontrados em esgotos sanitários (LEAL; LIBÂNIO, 2002), em efluentes industriais, neste caso sobre a forma de taninos (exemplo em efluentes de curtumes), anilinas (indústrias têxteis ou de pigmentos), lignina e celulose (indústrias de celulose e papel) (CETESB, 2014).

Alguns compostos inorgânicos abundantes em diversos tipos de solo podem também provocar efeitos de matéria em estado coloidal, como é o caso dos óxidos de ferro e de manganês. As algas em suspensão, populações bacterianas, material orgânico dissolvido e metais podem alterar, igualmente, a cor aparente da água. O crescimento intenso de algas pode, ainda, reduzir a quantidade de luz que atravessa o corpo d'água, desestabilizando o ecossistema. Além destes óxidos, outros metais presentes em efluentes industriais podem conferir cor, mas, em geral, íons dissolvidos pouco influenciam na passagem da luz (MALIK et al., 2011).

Porém, o maior problema da alteração da cor da água, em geral, é o estético, pois uma água altamente colorida causa um efeito repulsivo aos consumidores (CETESB, 2014). Assim, pelas alterações que a cor pode trazer à água, as estações de tratamento de água (E.T.A.) utilizam técnicas para remover a cor da água destinada ao abastecimento público. Dentre as principais técnicas disponíveis, Leal; Libânio (2002) destacam a remoção biológica, feita por microrganismos que removem o carbono (elemento responsável pela cor à água), e a coagulação ou floculação por meio de sais de ferro ou alumínio, seguida pela sedimentação ou flotação, adsorção, ozonização, troca iônica e ultrafiltração.

A unidade utilizada para quantificar a cor da água é chamada de escala de platina-cobalto, ou Pt/Co ou APHA-Hazen, baseada em 1 mg de platina por litro de água (CHAPMAN, 1996).

A presença de matéria orgânica em decomposição na água e o lançamento de efluente domésticos e industriais podem ainda conferir odor e sabor às águas, mostrando que este fator pode ser decorrente tanto da presença de compostos naturais como dos de origem antrópica (LEAL; LIBÂNIO, 2002).

A transparência é um parâmetro que está incluído em diversas normas de avaliação de água, pois indica o nível de atividade biológica, principalmente fotossintética. A transparência deve ser aferida, em campo, no momento da coleta da água, por meio do disco de Secchi, que é um dispositivo em forma de disco, separado em 4 quadrantes, onde cada quadrante é pintado, alternadamente, pela cor preta e pela cor branca. Para a aferição, o disco é mergulhado no corpo d'água, sendo monitorado visualmente, até que o disco desapareça e assim possa ser estimada a profundidade da zona fótica (CHAPMAN, 1996).

## 2.2. Turbidez

Turbidez é uma propriedade física dos líquidos relacionada com a redução da sua transparência, induzida pela presença de materiais em suspensão, que interferem na passagem da luz através deste fluido. Pode ser causada por uma enorme variedade de matérias, de origem orgânica ou inorgânica, variando desde partículas coloidais até sólidos de dimensões macroscópicas. A turbidez pode variar com a atividade biológica existente no rio e por influência da pluviosidade, principalmente por fortes chuvas, que carregam partículas de solo para dentro dos corpos hídricos (CHAPMAN, 1996). Os esgotos domésticos e industriais também elevam a turbidez das águas. A mineração, por exemplo, eleva a turbidez de maneira tão extrema, que tem provocado a formação de bancos de sedimentos em rios e, conseqüente, desequilíbrios ao ecossistema aquático (CETESB, 2014).

Uma turbidez normal varia de 1 a 1.000 NTU (unidades nefelométricas de turbidez) e pode ser aumentada pela presença de poluição por matéria orgânica ou outros poluentes ou ainda por enxurradas ricas em material suspenso (CHAPMAN, 1996). Uma turbidez alta reduz a fotossíntese de vegetação submersa e de algas, suprimindo a produtividade de peixes (CETESB, 2014).

## 2.3. Temperatura

Os corpos d'água sofrem variações de temperatura de acordo com as flutuações climáticas normais, que podem acontecer sazonalmente ou, em alguns recursos hídricos, no período de 24 horas. Ainda, lagos e reservatórios podem exibir uma estratificação vertical de temperatura dentro da coluna d'água (CHAPMAN, 1996). Ainda segundo Chapman (1996), a temperatura de águas superficiais é influenciada pela latitude, altitude, estação do ano, horário do dia, aeração, cobertura de nuvens e o fluxo e a profundidade do corpo d'água.

A temperatura pode influenciar processos físicos, químicos e biológicos nos ecossistemas aquáticos, além de ter outras variáveis dependentes. Se a temperatura aumenta, a taxa de reações químicas também aumenta, junto com a evaporação e volatilização de substâncias presentes na água, mas, por outro lado, este aumento resulta na redução da solubilidade de gases como o O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> e outros (CHAPMAN, 1996). Este parâmetro também influencia a taxa metabólica dos organismos aquáticos de modo que, temperaturas maiores podem aumentar o consumo de oxigênio, aumentar a decomposição de matéria orgânica, além de estimular a proliferação de bactérias e do fitoplâncton, em temperatura ideais a esses organismos e quando há nutrientes suficientes para o seu desenvolvimento (CHAPMAN, 1996). De Andrade et al. (2004) mostraram haver relação entre o aumento da temperatura e a incidência de danos no

DNA, induzidos pelo metilmetano sulfonato (MMS) em duas espécies de peixes, mostrando que este parâmetro, muitas vezes não explorado, deve ser levado em consideração nas análises ambientais.

#### 2.4. Condutividade

A condutividade elétrica é a medida da capacidade da água para conduzir a eletricidade e é indicativa da matéria ionizável total presente na água. Este fator, que depende das concentrações iônicas e da temperatura, indica a quantidade de sais existentes na coluna d'água e, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes. De acordo com Chapman, (1996), a condutividade varia de 10 a 1.000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  em águas doces, mas podem exceder este valor quando poluídas. Em contrapartida, de acordo com a CETESB (2014), valores superiores a 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  já indicam ambientes impactados. A água pura contribui minimamente com a condutividade e, por isso, a condutividade torna-se um parâmetro de avaliação da qualidade de águas, relacionado com a concentração de íons, provenientes de sais, que aumenta quando há lançamento de poluentes nos recursos hídricos.

No trabalho de Bianchi et al. (2011), os autores também encontram valores de condutividade elétrica maiores que 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  áreas reconhecidamente impactadas do rio Monjolinho, São Carlos, São Paulo, Brasil.

Sampaio et al. (2007) descreveram que a turbidez, as demandas química e bioquímica de oxigênio, o pH e a série de sólidos podem estar intimamente relacionados com a corrente elétrica, portanto, com a condutividade. No entanto, em seu trabalho, demonstraram que apenas os sólidos dissolvidos podem ter relação com a condutividade.

Em geral, nos estudos onde há análise física e química de alguns parâmetros da água, a condutividade enquadra-se entre os mais importantes, mas, apesar deste destaque, não há exploração ou aprofundamento sobre este critério. Muitos pesquisadores apresentam, em suas publicações os valores de condutividade, mas não discutem a sua importância no estudo realizado ou se este está dentro ou fora da faixa de normalidade. Por isso, mais estudos precisam ser realizados para ver qual é a real importância na determinação da condutividade de uma amostra de água ou de um efluente.

#### 2.5. Série de Sólidos

Em saneamento, sólidos nas águas correspondem a toda matéria que permanece como resíduo, após evaporação, secagem ou calcinação da amostra a uma temperatura pré-estabelecida, durante um tempo fixado. Geralmente, os sólidos presentes na água podem ser avaliados pela



distribuição das suas diferentes frações, que podem estar relacionadas com o tamanho das partículas (sólidos em suspensão e dissolvidos) e com a natureza química das partículas (sólidos ou minerais fixos ou voláteis). A somatória de todas as frações presentes em um corpo d'água é representada pelos sólidos totais. Os métodos empregados para a determinação de sólidos são gravimétricos, por meio do uso de balança analítica ou de precisão (CETESB, 2014).

A concentração e a composição natural dos sólidos dissolvidos em um corpo d'água é determinada pela geologia de seu leito, pela precipitação atmosférica e pelo balanço hidrológico (evaporação/precipitação) (WEBER-SCANNELL; DUFFY, 2007).

Para Weber-Scannell; Duffy (2007), a poluição dos corpos d'água por sólidos em suspensão podem causar danos à vida aquática. O aumento da turbidez da água leva a uma diminuição da incidência de luz, que provoca uma redução da taxa de fotossíntese, que compromete a produção de alimentos para a cadeia alimentar. Ainda segundo esses autores, o aumento dos sólidos dissolvidos totais, devido ao aumento da salinidade, modifica a composição iônica da água e a toxicidade individual dos íons, o que provoca alterações na biota aquática, limita a diversidade, exclui as espécies menos tolerantes e causa efeitos agudos e crônicos em estágios específicos de vida.

Os sólidos totais dissolvidos representam uma forma de medir as concentrações totais de íons comuns presentes em águas doces, como sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloro, sulfatos e bicarbonato, mas a toxicidade de um efluente pode ocorrer por sua combinação e por sua concentração individual, o que não é medido pelos sólidos dissolvidos (CHAPMAN et al., 2000).

De acordo com Osibanjo et al. (2011), os sólidos solúveis e os sólidos dissolvidos podem ser depositados no fundo dos corpos d'água, como o leito de um rio, trazendo sérios problemas ecológicos como assoreamento e consequente inundação, principalmente nas épocas de grandes chuvas.

## **2.6. Potencial hidrogeniônico (pH)**

O pH é uma variável importante na avaliação da qualidade de água, já que influencia muitos processos biológicos e químicos de um sistema hídrico. Isto por que a sobrevivência dos organismos aquáticos é muito influenciada pelo pH dos corpos d'água, uma vez que a maior parte de suas atividades metabólicas é dependente dele (OSIBANJO et al., 2011). De acordo com os dados da CETESB (CETESB, 2010), o pH pode interferir diretamente sobre a fisiologia da biota local e indiretamente sobre as substâncias químicas presentes na água, disponibilizando-as ou precipitando-as. Alterações no pH dos recursos hídricos podem promover a inibição ou até mesmo o desaparecimento de algumas espécies de organismos aquáticos, principalmente aqueles

que compõem o plâncton (GERTEL et al., 2003; BIRUNGI et al., 2007). O pH também influencia, ainda, nos processos de fornecimento de água tratada.

Quando este parâmetro é utilizado para medir os efeitos do lançamento de efluentes, ele pode ajudar a determinar o tamanho da pluma de contaminação (CHAPMAN, 1996). De acordo com os dados da CETESB (2010), em águas não poluídas, o pH é controlado principalmente pelo equilíbrio do dióxido de carbono, dos carbonatos e dos íons bicarbonatos com outros compostos naturais, como os ácidos húmico e fúlvico. Deste modo, mudanças no pH podem indicar a presença de efluentes específicos (CHAPMAN, 1996).

### **3. Parâmetros químicos**

#### **3.1. Oxigênio dissolvido (O.D.)**

A avaliação da concentração do O.D. é crucial para garantir a sobrevivência dos organismos aquáticos e, em última instância, para se determinar o grau de pureza da água de um rio (OSIBANJO et al., 2011). Oliveira et al. (2012) apontam um valor de 5,0 a 6,0 mg O<sub>2</sub>/L como capaz de suportar populações variadas de peixes.

O conteúdo de oxigênio dos recursos hídricos varia com a temperatura, salinidade, turbulência, pressão atmosférica e atividade fotossintética de algas e plantas superiores. A solubilidade do oxigênio diminui conforme aumenta a temperatura e a salinidade aumentam (CHAPMAN, 1996).

Os níveis de O.D. de um rio podem ser reduzidos pelo lançamento de efluentes ricos em carga orgânica, pois a oxidação química e a decomposição deste material depende de altos níveis de oxigênio (OSIBANJO et al., 2011). Isso também é constatado pela CETESB (2014), que define uma alta demanda de oxigênio para o processo de alta depuração existente em um corpo hídrico poluído.

Concentrações de oxigênio abaixo de 5 mg/L podem afetar o funcionamento e a sobrevivência das comunidades aquáticas e abaixo de 2 mg/L pode levar a maioria das espécies de peixes a morte (CHAPMAN, 1996).

#### **3.2. Demanda química de oxigênio (D.Q.O.)**

A D.Q.O. representa a quantidade de oxigênio necessária para a oxidação da matéria orgânica, por meio de reação química, isento de processo de biodegradação (CETESB, 2010). De acordo com Oliveira et al. (2012), a D.Q.O., que é avaliada pelo consumo potencial de oxigênio em um sistema aquático, serve como um parâmetro eficiente para se estimar os efeitos de

efluentes industriais e domésticos sobre os ecossistemas aquáticos. Embora seja um fator importante a ser considerado na avaliação da qualidade de água de um rio, a legislação federal ou estadual vigente no Brasil não prevê este parâmetro nas análises dos recursos hídricos.

As concentrações de D.Q.O. observadas para águas doce variam de 20 mg/L O<sub>2</sub> (ou menos) para águas limpas até valores de 200 mg/L O<sub>2</sub> para águas que recebem efluentes. Efluentes industriais podem extrapolar este valor para uma variação de 100 a 60.000 mg/L O<sub>2</sub> (CHAPMAN, 1996).

Um aumento na D.Q.O. pode ser um indicativo de que um rio esteja impactado por efluentes industriais não tratados ou tratados de maneira insatisfatória, como observado por Osibanjo et al. (2011), quando avaliaram os rios da Nigéria. Ainda, estes mesmos autores relacionam, neste estudo, os altos níveis de D.Q.O. com o recebimento de lixiviado proveniente de aterros sanitários, de áreas agrícolas e áreas urbanas. Mohamed et al. (2015), em seu trabalho, confirmam que a D.Q.O. pode ser muito útil para verificar a qualidade da água, porque sua aplicação determina a quantidade de poluentes orgânicos em águas superficiais e efluentes.

### **3.3. Demanda bioquímica de oxigênio (D.B.O.)**

A D.B.O. é relacionada indiretamente com a presença de matéria orgânica no corpo d'água, proveniente, principalmente, de efluentes domésticos não tratados (OLIVEIRA et al., 2012). Neste caso, diferentemente da D.Q.O., o consumo do oxigênio é devido à decomposição microbiana aeróbia, que resulta em compostos inorgânicos estáveis como água, dióxido de carbono, sulfatos, amônias, fosfatos e nitratos (ARAÚJO, 2013).

Geralmente, a avaliação da D.B.O. é realizada durante um período em que é quantificado o consumo de oxigênio, sob condições específicas de temperatura, sendo o padrão mais utilizado o de 5 dias a 20°C (D.B.O.<sub>5,20</sub>).

Aumentos nos níveis de D.B.O. indicam a presença de despejos de matéria orgânica nos corpos d'água, que são utilizadas pelos microrganismos decompositores em processo aeróbio, culminando no consumo do oxigênio dissolvido e, conseqüentemente, na mortandade de peixes e outros organismos aquáticos. Esse aumento da comunidade microbiana desequilibra o ecossistema aquático e pode promover odor e sabor desagradáveis para a água (CETESB, 2010).

Águas limpas geralmente apresentam D.B.O. menor que 2 mg/L O<sub>2</sub>, enquanto que as águas que recebem efluentes podem apresentar, próximo ao local do despejo, valores maiores que 10 mg/L O<sub>2</sub>. Esgoto bruto, por exemplo, tem uma D.B.O. de cerca de 600 mg/L O<sub>2</sub>, enquanto os efluentes de esgoto que são tratados possuem D.B.O. entre 20 e 100 mg/L O<sub>2</sub>,

dependendo do tratamento aplicado. Efluentes industriais podem apresentar valores de D.B.O. de até 25.000 mg/L O<sub>2</sub> (CHAPMAN, 1996).

### 3.4. Óleos e graxas

A análise da presença e a quantificação de óleos e graxas em um corpo hídrico pode indicar a presença de poluição por óleos, como o petróleo e seus derivados, que podem ser carregados pelas chuvas e enxurradas de uma cidade (OSIBANJO et al., 2011). Ainda, de acordo com Kanu; Achi (2011), óleos e graxas podem estar presentes em efluentes de lavanderias, indústrias de acabamentos metálicos, campos de extração e refinarias de petróleo, curtumes, empresas de extração de óleos vegetais e empresas de produção de cosméticos.

Yusuff; Sonibare (2004) relatam que uma indústria produtora de sabão pode gerar efluentes ricos em óleos e graxas, com concentrações em torno de 560 mg/L, mas que, com o tratamento adequado, pode reduzir para concentrações em torno de 8,0 mg/L.

Os efluentes domésticos e urbanos (como vazamentos de óleos e combustíveis) podem levar óleos e graxas até os corpos d'água que, conseqüentemente, podem interromper a interface ar/água, parar o fluxo de gases e induzir efeitos tóxicos sobre os organismos (DÜSMAN et al., 2011).

### 3.5. Alumínio (Al)

O alumínio é um metal muito utilizado e distribuído no ambiente e, por isso, de fácil exposição aos seres humanos, seja pelo ar, alimento e água ou, até mesmo por medicamentos, cosméticos e compostos ambientais. O cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) é usado rotineiramente no tratamento e na purificação de água, por ser um excelente coagulante (LIMA et al., 2011). Porém, as principais fontes de Al incluem indústrias mineradoras e de fundição de minério de bauxita, indústrias de utensílios e aparelhos domésticos e embalagens de alumínio, já reconhecidas como impactantes para o meio ambiente (ACHARY; PANDA, 2009).

Devido à sua baixa solubilidade na água, suas concentrações geralmente são baixas neste meio, variando de 60 a 300 µg/L. Em rios, a média fica em torno de 64 µg/L, mas com o aumento de chuvas ácidas, em algumas regiões, o pH da água é reduzido e a disponibilidade do Al é aumentada, permeando-se pela cadeia alimentar aquática (BARABASZ et al., 2002). Além disso, de acordo com Wrobel (1993), o número de íons de Al é diretamente proporcional ao número de íons de hidrogênio.

Diversos estudos demonstram que o Al pode ser benéfico, mas também prejudicial para os vegetais, inclusive podendo levá-los à morte. Sabe-se que o Al estimula a absorção de ferro

pelas raízes, previne os efeitos tóxicos do cobre e manganês e protege a planta contra fungos fitopatogênicos, além de auxiliar a manter a homeostase sob situações adversas. Por outro lado, o Al induz mudanças morfológicas nas raízes, inibe o crescimento por alongação, provoca calosidades nas raízes, reduz o número de raízes secundárias e mata as gemas apicais (BARABASZ et al., 2002). O Al pode apresentar efeitos dose-dependente, como observado no trabalho de Achary; Panda (2009), onde o Al, em baixas concentrações, mostrou efeitos protetores ao genoma contra reconhecidos agentes genotóxicos, mas quando encontrado em altas concentrações induziu danos ao DNA das células de *Allium cepa*. Esses resultados corroboram os dados de Lima et al. (2011), que também observaram que o Al pode apresentar potencial genotóxico e mutagênico, induzindo micronúcleos, trocas de cromátides irmãs, revertentes no teste de AMES e aberrações cromossômicas. Neste artigo, os autores citam que o Al pode prejudicar invertebrados como gastrópodes, bivalves e crustáceos, por interferir na absorção do cálcio e, conseqüentemente, na formação da concha ou do exoesqueleto. Para vertebrados, as altas concentrações de Al também são prejudiciais. Os peixes podem acumular este elemento nas brânquias, o que bloqueia a troca de íons e a respiração, levando-os a morte. As aves também apresentam deficiência na absorção de Ca, quando expostos ao Al, o que influencia, principalmente, na formação das cascas dos ovos e no depósito deste metal nos ossos. Já os mamíferos podem sofrer com distúrbios relacionados ao sangue (eritropoiese, leucocitose e linfopenia), ao sistema gastrointestinal (absorção de nutrientes, transporte ativo, enzimas digestivas) e ao sistema ósseo (mudanças minerais no osso e fragilidade em ossos longos) (LIMA et al., 2011).

De todo alumínio ingerido por humanos, via alimentação e água (LIMA et al., 2011), apenas 10% é absorvido e acumulado em diferentes tecidos, como cérebro, ossos, fígado e rins, ainda de maneira dependente do pH e de ácidos orgânicos, como o citrato e o lactato (KUMAR; GILL, 2014).

Sugere-se que altos níveis de Al tenham relação com o aumento do risco de algumas doenças neurodegenerativas, como encefalopatia dialítica, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (KUMAR; GILL, 2014). Lima et al. (2011) reforça que o Al também pode diminuir, em seres humanos, a absorção do Ca e provocar fragilidade óssea.

Apesar de existir a possibilidade de o Al ser transferido pela cadeia alimentar, Harmon; Wiley (2011) dizem que o metal acumulado em peixes pela via oral não se acumula em tecidos que ameaçam os consumidores humanos.

### 3.6. Arsênio (As)

Dentro do contexto da toxicologia, o arsênio é considerado um metal pesado, embora seja classificado como um semi-metal na tabela periódica (possui propriedades de metais e ametais) (JOMOVA et al., 2011). Este elemento tem números de oxidação iguais a +3, +5 e -3, o que torna o arsênio capaz de formar compostos orgânicos e inorgânicos, tanto no meio ambiente quanto no organismo humano (ORLOFF et al., 2009).

Quando o arsênio é combinado com oxigênio, cloro e enxofre são formados compostos inorgânicos e, quando combinados com hidrogênio e carbono, formam-se compostos orgânicos. Ainda, pelo fato do arsênio não possuir cor e nem odor, sua presença é imperceptível em alimentos, na água ou no ar, o que pode aumentar os riscos de contaminação e, conseqüentemente, os danos provocados à saúde humana (JOMOVA et al., 2011).

O arsênio é reconhecido como veneno desde a antiguidade mas, atualmente, sua toxicidade e outros efeitos têm sido também verificado para diversos organismos (HARMON; WILEY, 2011). Apesar de estar vastamente distribuído pelo ambiente, o arsênio pode ser muito consumido por meio da dieta rica em peixes marinhos, frutos do mar e algas marinhas, excedendo os limites considerados seguros (ORLOFF et al., 2009).

De acordo com Jomova et al. (2011), a indústria de cosméticos também inclui o arsênio em alguns de seus produtos, como sombras para olhos aplicadas sobre as pálpebras, que entram no organismo pela absorção da pele. O arsênio utilizado, quando entra no organismo humano, é eliminado pela urina e liberado no esgoto doméstico. Quando presente na água e consumido em baixas concentrações, por um longo período, o As é capaz de induzir diversas doenças, principalmente o câncer (ORLOFF et al., 2009). Este elemento em sua forma inorgânica é mais tóxico do que na forma orgânica, mas ambos induzem danos na maioria dos organismos vivos e são responsáveis por afetar os sistemas cardiovascular e neurológico e órgãos como rins e fígado (JOMOVA et al., 2011). O As pentavalente e o As trivalente são responsáveis por diversas alterações celulares, entretanto, este último é a forma mais perigosa. O arsênio trivalente interfere no ciclo do ácido cítrico e reduz a produção de ATP, inibe o consumo de glicose pelas células e induz o estresse oxidativo, afetando a glutatona (MILLER et al., 2002; BERGQUIST et al., 2009).

### 3.7. Bário (Ba)

O bário é um metal alcalino terroso que possui propriedades tóxicas. Os compostos de bário são usados em pequenas quantidades para a produção de tintas, vidros e também foguetes. O bário é um elemento químico tóxico, não sendo encontrado livre na natureza, devido à sua

elevada reatividade. Todos os compostos de Bário que são solúveis em água ou em ácidos são altamente tóxicos. A principal fonte de bário no ar atmosférico é a emissão industrial, particularmente combustão de carvão e óleo diesel e incineração de resíduos (CETESB, 2012).

Este elemento ocorre naturalmente na maioria das águas superficiais e sua concentração depende do teor de bário lixiviado das rochas, apresentando-se na forma de carbonatos, em concentrações de 0,7 a 900 µg/L. A água potável contém de 10 a 100 µg/L de bário e valor máximo permitido na água potável é 0,7 mg/L, de acordo com a legislação brasileira (CETESB, 2012; 2014).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2001), as informações sobre a genotoxicidade dos compostos de bário são limitadas, devido ao fato de existirem estudos que confirmam este efeito enquanto outros trabalhos negam a indução de danos ao DNA por este composto.

De acordo com Wise et al., 2003, o cromato de bário demonstrou-se capaz de induzir atraso no ciclo celular e danos cromossômicos em células humanas de pulmão mantidas em cultura. Os efeitos citotóxicos e genotóxicos foram observados mesmo em baixas concentrações, variando de 1 a 5 µg/cm<sup>2</sup>.

A queima de combustíveis fósseis também pode liberar o metal. As emissões na água podem ocorrer durante a purificação do minério barita e o subsequente descarte dos efluentes, mas as principais fontes antrópicas de bário são as indústrias da borracha, têxtil, cerâmica e farmacêuticas (CETESB, 2012; 2014).

### **3.8. Cádmio (Cd)**

O cádmio ocorre naturalmente na crosta terrestre e existe no ambiente na forma de óxidos e sais, como o cloreto, sulfato e sulfito de cádmio. Ele é usado pelo homem nas indústrias e em fundição, em baterias, em coberturas plásticas e metálicas, em soldagem, nos esmaltes vítreos e na queima de combustíveis fósseis (USEPA, 2006).

Em vegetais, o Cd pode ser facilmente absorvido pelas raízes e levado pelo xilema até as folhas, provocando inibição no crescimento, alterações na taxa de fotossíntese e no consumo de macro e micronutrientes, além de complicações na absorção de água pela planta (PÉREZ-CHACA et al., 2014). Uma vez nos vegetais, o Cd pode ser transferido via cadeia alimentar e se definir como uma ameaça a saúde humana (CLEMENS, 2006).

O cádmio é um elemento químico classificado pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA, 2006) como um possível agente carcinogênico para seres humanos, além de trazer riscos severos como disfunções renais e até mesmo a morte em exposições extremas (FU;

WANG, 2011). De acordo com Pérez-Chaca et al. (2014) o Cd exibe toxicidade, devido à produção de espécies reativas de oxigênio e consequente estresse oxidativo. Uma das principais fontes de exposição ao Cd é por meio do cigarro (PÉREZ-CHACA et al., 2014), pois o metal é prontamente absorvido pelas raízes da planta do tabaco e direcionado até as folhas (CLEMENS, 2006). Dependendo da fonte do tabaco, um único cigarro pode conter de 1 a 2 µg de cádmio (USEPA, 2006).

Além de afetar os seres humanos, estudos mostram que o Cd presente nos corpos d'água pode afetar outras espécies, como os peixes. Eissa et al. (2010) demonstraram que o metal foi capaz de alterar alguns parâmetros de locomoção em três espécies de peixes de água doce (*Cyprinus carpio*, *Australopherus facetum* e *Astyanax fasciatus*).

Ahmed et al. (2010) expuseram espécimes de *Anabas testudineus* (Perciformes) a diferentes concentrações de cloreto de cádmio e verificaram, pelo ensaios do cometa, os seus efeitos genotóxicos desta substância. Os resultados obtidos demonstraram um efeito diretamente proporcional entre os danos ao DNA e as concentrações da substância testada. Outros organismos vivos também estão susceptíveis aos efeitos prejudiciais do Cd, conforme a literatura revisada por Harmon; Wiley (2011).

### 3.9. Chumbo (Pb)

O chumbo não é essencial ao organismo humano, mas é utilizado para diversas finalidades, desde os tempos remotos, devido às suas propriedades físicas e químicas, incluindo maleabilidade, resistência à corrosão e baixa condutividade (CHINDE et al., 2014). Atualmente, o chumbo é usado nas indústrias de tintas, cerâmicas, corantes, borracha, porcelana e baterias (YILMAZ et al., 2012).

Além de promover danos ao sistema nervoso central, este metal é capaz de danificar os rins, o fígado e o sistema reprodutor. Os sintomas de intoxicação são anemia, insônia, cefaleia, tonturas, irritabilidade, fraqueza muscular, alucinações e problemas renais (NASEEM; TAHIR, 2001). Ainda, de acordo com Abadin et al. (2007), o Pb também pode induzir efeitos deletérios nos sistemas cardiovascular e hematológico do organismo.

Segundo as informações reunidas por Chinde et al. (2014), o Pb é classificado como um possível agente carcinogênico, relacionado aos cânceres de estômago, pulmão e bexiga, mas os estudos existentes são insuficientes para determinar sua carcinogenicidade. Como a genotoxicidade está associada ao estágio inicial do desenvolvimento do câncer, estudos de avaliação do potencial genotóxico em humanos permitem inferir se uma dada substância seria um possível agente carcinogênico (KASSIE, 2000). Deste modo, foram realizadas avaliações



genotóxicas para o Pb, mas os resultados se mostraram, segundo Chinde et al. (2014), inconclusivos, pois alguns trabalhos apontaram para a genotoxicidade do Pb, enquanto outros não evidenciam esta propriedade.

### 3.10. Cloretos

O cloro existente nas águas se apresenta sob a forma de cloretos (Cl) e chega nas águas superficiais pela deposição atmosférica de aerossóis oceânicos, pelo intemperismo sobre rochas sedimentares (ricas em depósitos de sais) e por fontes antrópicas (CHAPMAN, 1996). De acordo com este mesmo autor, efluentes domésticos e industriais podem ser ricos em compostos clorados, assim como as enxurradas urbanas e agrícolas, que levam material clorado para o ambiente aquático. Nos países onde há neve, o hábito de jogar sal para derreter o gelo pode aumentar as concentrações de cloro nos rios e nas águas subterrâneas.

As maiores fontes de cloro nos rios podem ser os efluentes industriais que contenham ácido clorídrico, sal comum e outros compostos formados por cloro, como matérias-primas utilizadas na indústria alimentícia (OSIBANJO et al. 2011).

As águas limpas devem conter concentrações inferiores a 10 mg/L de cloretos e valores superiores a esse podem indicar a presença de contaminantes, como esgoto (CHAPMAN, 1996).

### 3.11. Cobre (Cu)

Desde a antiguidade, devido às suas propriedades de maleabilidade, ductilidade e condutividade elétrica, o cobre é bastante utilizado. Atualmente é muito usado na produção de canos para águas com grande variação de temperatura, de fios elétricos, de bocais para sistemas hídricos, no processo de banhos metálicos de joias e na fabricação de moedas. Além disso, o cobre é muito utilizado para a produção de bronze, uma liga metálica com estanho, mas que pode conter elementos como zinco, alumínio e níquel (USEPA, 2005).

Este elemento químico, que participa e é essencial ao metabolismo dos animais, está presente em sedimentos e em águas de ambientes limpos. Porém, nos rios, o cobre é geralmente absorvido por partículas insolúveis ou é complexado com ligantes inorgânicos (CETESB, 2014).

As principais atividades antrópicas que contaminam o ambiente com Cu são as mineradoras, os efluentes industriais, as estações de tratamento de esgoto, o uso de tintas anti-incrustação e o uso dos encanamentos de cobre para águas ácidas. Contudo, este metal também pode ser levado às águas por processos naturais, pelo intemperismo do solo (USEPA, 2005).

O Cu participa de muitos sistemas fisiológicos enzimáticos, que catalisa reações de oxirredução e usa o oxigênio como cosubstrato (GABBIANELLI et al., 2003). Seu consumo

elevado traz sérios problemas toxicológicos, como vômitos, cólicas, convulsões e morte (PAULINO et al., 2006), sendo que a concentração que induz efeito tóxico é, geralmente, de 10 a 50 vezes superior à concentração necessária para o bom funcionamento do organismo (GABBIANELLI et al., 2003).

Segundo a CETESB (2014), concentrações superiores a 20 mg/L são capazes de produzir intoxicações no homem, com lesões hepáticas. Ainda, devido à constante exposição, os peixes são mais sensíveis às elevadas concentrações do Cu, onde 0,5 mg/L já é letal para trutas, carpas, bagres e outros. Já a toxicidade para microrganismos fica na ordem de concentrações acima de 1,0 mg/L (CETESB, 2014).

De acordo com Mir et al. (2014), uma das formas de indução de genotoxicidade pelo cobre é por estresse oxidativo e pela produção de espécies reativas de oxigênio capazes de danificar diretamente o DNA. Os íons  $\text{Cu}^{2+}$  reagem com moléculas importantes da células, de modo não específico, e sua presença aumenta os níveis de radicais livres intracelulares, que pode induzir a quebra das fitas de DNA (GABBIANELLI et al., 2003). No entanto, existem estudos que demonstram resultados positivos e negativos para a genotoxicidade do cobre. No trabalho de Rasgele et al. (2013), a exposição de camundongos ao cloreto de cobre induziu aumento na incidência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos, caracterizando mutagenicidade, e ao mesmo tempo diminuiu a relação entre eritrócitos poli e normocromáticos, indicando citotoxicidade.

Segundo Bianchi et al. (2011), as águas do rio Monjolinho (São Carlos, Brasil) também apresentaram altos níveis de níquel e cobre, que poderiam ser os responsáveis pela indução de aberrações cromossômicas em células meristemáticas de *Allium cepa*. No trabalho de Manzano et al. (2014), foram verificados efeitos genotóxicos para amostras de águas que recebem efluentes industriais e domésticos na região de Limeira, estado de São Paulo, Brasil. Neste trabalho foi confirmado o potencial genotóxico de águas que contém metais pesados, dentre eles, o cobre, sobre células de mamíferos mantidas em cultura.

### 3.12. Cromo (Cr)

Efluentes ricos em cromo são provenientes das indústrias de beneficiamento de couro (curtumes), galvanoplastia e produtoras de corantes, tintas e papel. Este elemento se apresenta no ambiente aquático na forma de cromo trivalente e cromo hexavalente. Geralmente, o Cr(VI) é mais tóxico que o Cr(III) e é capaz de se acumular na cadeia alimentar e chegar até os seres humanos, cuja fisiologia pode ser alterada por severos problemas de saúde, que vão desde irritação cutânea a câncer de pulmão (KHEZAMI; CAPART, 2005). De acordo com Matsumoto

et al. (2006), o cromo é reconhecido por ter efeitos tóxicos, genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos sobre os homens e os animais. O Cr(III) é potencialmente mutagênico, mas ele não consegue atravessar as membranas celulares e só pode ser absorvido pelas células por processos de endocitose, o que o torna menos acessível a elas. No entanto, o Cr(III) pode ser convertido para o Cr(VI) no ambiente e atravessar facilmente as membranas celulares, podendo afetar diretamente as moléculas de DNA. Além disso, uma vez dentro das células, o Cr(VI) pode ser novamente reduzido a Cr(III) e, assim, permitir que este metal provoque danos genotóxicos (MATSUMOTO, 2003). Essas informações corroboram o trabalho de Vignati et al. (2010), que demonstraram um potencial tóxico de 5 a 10 vezes maior do Cr(III), para algas, quando comparado ao Cr(VI).

Os peixes são resistentes ao acúmulo de Cr, pois são capazes de eliminar este elemento do organismo. Assim como acontece para o Zn, o Cr entra rapidamente no organismo pelas brânquias, por difusão passiva, mas pode concentrar-se em outros órgãos. No entanto, a área de ação tóxica do Cr, capaz de matar peixes, é dependente do pH (BIRUNGI et al., 2007).

### 3.13. Ferro (Fe)

O ferro é utilizado por quase todos os organismos vivos. Geralmente ele é incorporado ao complexo heme, que é responsável por transportar o oxigênio nas hemácias, até as células, onde será consumido. Por isso, este elemento pode ser encontrado na medula óssea, no fígado e no baço dos vertebrados (LIMA et al., 2011).

Quando consumido em grandes concentrações, o Fe pode causar danos ao trato gastrointestinal, por promover a desregulação e o aumento da absorção do próprio ferro, levando à intoxicação (CHAU et al., 1993). Existem relatos de alterações no coração, rins, fígado e trato gastrointestinal e indução de diabetes, em consequência do elevado consumo de sulfato de ferro ( $\text{FeSO}_4$ ) (LIMA et al., 2011). Assim como acontece com o Al, uma exposição intensa ao Fe também é associada a doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (LIMA et al., 2011).

De acordo com Lima et al. (2011), alguns estudos têm sido conduzidos para demonstrar o potencial de indução de aberrações cromossômicas do Fe, mas os resultados são inconclusivos e os efeitos mutagênicos ainda precisam ser elucidados. Aparentemente, o Fe livre danifica as moléculas de DNA, por promover o estresse oxidativo, por meio da conversão de superóxidos e peróxido de hidrogênio em radicais hidroxila (BERG et al., 2001).

No entanto, a ocorrência de ferro em solução aquosa é dependente das condições ambientais, especialmente em relação ao potencial redox. Águas superficiais de ambientes lóticos,

bastante aeradas, não devem conter mais do que poucos microgramas de ferro livre, por litro de água, em um pH entre 6,6 e 8,5 (CHAPMAN, 1996).

### 3.14. Fluoretos ( $F^-$ )

Os fluoretos, que são oriundos do intemperismo de minerais, são levados pelas enxurradas até as águas superficiais, enquanto, nas águas subterrâneas, eles podem ser diretamente formados pelo contato da água com o mineral do substrato sólido. As concentrações de fluoretos em águas superficiais limpas varia de 0,05 a 100 mg/L, e sua mobilidade é dependente das concentrações de Ca, pois podem formar com este elemento compostos de baixa solubilidade (CHAPMAN, 1996).

As principais fontes antrópicas de lançamento de fluoreto no ambiente são as indústrias de fertilizantes a base de fosfato e indústrias de cerâmica, telhas e azulejos, fundições (processamento de aço, alumínio, cobre e níquel), indústria alimentícia e farmacêutica, além da cosmética, pela produção de pastas de dente e enxaguantes bucais (GHOSH et al., 2013; CAO et al., 2013).

O tratamento da água a ser distribuída para a rede pública tem como processo final de tratamento a fluoretação, processo este responsável por reduzir, com grande alcance, a cárie dentária da população. No entanto, deve-se investigar corretamente a fonte de água, pois, se naturalmente ela contiver concentrações elevadas de fluoretos, a adição deste composto pode comprometer a qualidade da água e a saúde daqueles que a consumirem (CAZOTTI et al., 2012). De acordo com Ghosh et al. (2013), a Organização Mundial da Saúde limita a concentração de fluoreto em 1,5 mg/L em águas destinadas ao consumo humano, mas recomenda 0,5 mg/L como concentração ideal para trazer benefícios à saúde.

O consumo excessivo de fluoretos pode provocar, em seres humanos e outros animais, uma doença chamada de fluorose, responsável pelo aparecimento de manchas nos dentes, fragilização dos ossos e danos neurológicos severos. A exposição oral aguda pode levar a náusea, vômitos, dor abdominal, diarreia, sonolência, cefaleia, convulsões, coma, parada cardíaca e morte (GHOSH et al., 2013).

Segundo Harmon; Wiley (2011), os organofluoretos podem comprometer o desenvolvimento, a reprodução e a saúde de algumas espécies que vivem no ambiente aquático, inclusive peixes. Ainda, de acordo com Sinha et al. (2000), o excesso de fluoretos pode provocar redução na síntese de clorofila e no conteúdo proteico em vegetais.

Em peixes, o excesso de fluoretos pode causar efeitos tóxicos, como retardo no crescimento e no desenvolvimento, mudanças patológicas nos tecidos das brânquias e do fígado,

acúmulo e deformação óssea, desequilíbrio metabólico e aumento na mortalidade. No entanto, apesar de algumas espécies de peixes apresentarem uma maior resistência às altas concentrações de fluoretos, esse composto pode induzir nestes organismo estresse oxidativo e apoptose nos hepatócitos (CAO et al., 2013).

### **3.15. Fósforo Total**

Altas concentrações de fósforo, entre outros nutrientes, são conhecidos por induzir a eutrofização, processo esse que reduz e até elimina o oxigênio dissolvido na água (CETESB, 2014). No entanto, o fósforo pode ser um fator limitante para a proliferação de algas, organismos estes responsáveis pela fotossíntese no meio aquático, correspondendo ao nível trófico de produtores (CHAPMAN, 1996).

De acordo com a CETESB (2014) e Chapman (1996), existem três formas de encontrarmos o fósforo no meio aquático: (1) fosfato orgânico, quando há o fósforo ligado a moléculas orgânicas; (2) ortofosfato, que são representados pelos radicais que se combinam com cátions, formando sais inorgânicos nas águas; e (3) polifosfatos, também chamados de polímeros de ortofosfatos, que são menos importantes, pois sofrem hidrólise rápida e são convertidos a ortofosfatos.

As principais fontes naturais de fósforo em corpos d'água são a geologia dos leitos dos rios e a decomposição da matéria orgânica existente. No entanto, raramente o fósforo é encontrado em altas concentrações nos recursos hídricos, porque ele é facilmente utilizado pelos vegetais. Em ambientes limpos são aceitos níveis de 0,005 a 0,020 mg/L  $\text{PO}_4^-$ . Níveis superiores a este citado, já podem caracterizar ambientes impactados (CHAPMAN, 1996).

Indústrias que utilizam ácido fosfórico e sais de fosfatos como matéria-prima, como as indústrias de detergentes a base de fosfato e as de fertilizantes, são as prováveis fontes de fosfato nos rios (OSIBANJO et al., 2011).

### **3.16. Manganês (Mn)**

De acordo com Lima et al. (2011), o manganês é um elemento essencial para animais e vegetais e é necessário para o crescimento, desenvolvimento dos organismos e a manutenção da homeostase orgânica. Nos animais, este metal é um cofator importante para diversas enzimas envolvidas com a síntese de DNA, com a síntese de neurotransmissores e a transdução de sinais, sendo adquirido, diretamente, pela alimentação e, indiretamente, pela inalação de partículas (SANTAMARIA; SULSKY, 2010). Porém, quando em excesso, o Mn pode causar neurotoxicidade em adultos e em embriões durante a gestação, além de afetar o sistema nervoso

central de maneira crônica e provocar uma síndrome conhecida como manganismo. A neurotoxicidade do manganês pode estar associada a danos e problemas na replicação do DNA, à inativação de enzimas de detoxificação que protegem as células e à sua associação com o sistema redox celular (LIMA et al., 2011).

Já nos vegetais, o Mn participa do processo respiratório e sua deficiência prejudica o desenvolvimento vegetal e, conseqüentemente, a agricultura (GERBER et al., 2002).

De acordo com Santamaria; Sulsky (2010), o Mn é o quarto metal mais usado nas indústrias, com alto uso em siderurgias, em baterias secas, na produção do permanganato de potássio e seus derivados, na produção de vidro, no clareamento de tecidos, em palitos de fósforo e fogos de artifício, na cobertura metálica, como agente oxidante, e nos curtumes. Compostos orgânicos com Mn estão presentes em fungicidas, aditivos de combustíveis e em substâncias de contraste para ressonância eletromagnética (SANTAMARIA; SULSKY, 2010).

A concentração máxima de manganês encontrada em águas doces limpas é de 100 µg/L e na água potável, para consumo humano, a sua concentração deve ser de cerca de 4 µg/L, embora a Agência de Proteção Ambiental dos EUA limite a concentração em 0,05 mg/L (GERBER et al., 2002). Santamaria; Sulsky (2010) descrevem que são poucos os estudos que reportaram efeitos tóxicos deste elemento, pela exposição à água contaminada, mas explica que no Japão houve um caso onde indivíduos consumiram água de um poço contaminado por Mn (28 mg/L), derivado de baterias enterradas próximas ao poço, que sofreram letargia, tremores e distúrbios mentais.

Não são conhecidos efeitos tóxicos naturais para o manganês, derivada da ingestão de alimentos ou por tomar quantidades consideráveis de suplementos e, aparentemente, o manganês existente no ambiente não oferece ameaça ao homem e nem ao próprio meio (GERBER et al., 2002). No entanto, Santamaria; Sulsky (2010) relatam diversos estudos que demonstram o potencial neurotóxico do Mn, quando são inalados compostos que contenham esse elemento.

Embora poucos trabalhos apontem para uma indução de efeitos tóxicos pelo Mn, seu potencial mutagênico foi bem descrito por Gerber et al. (2002). Estes autores compilam informações importantes: o permanganato de potássio é capaz de prejudicar a integridade da cadeia de DNA; a fidelidade de replicação do DNA é comprometida na presença de Mn<sup>+</sup>; o sulfato de manganês pode induzir mutações em organismos-teste procariontes; o Mn pode atuar como um fator de indução de erro na replicação de DNA mitocondrial em *Saccharomyces cerevisiae*; o cloreto de manganês pode induzir mutações em *Drosophila melanogaster* e em células de mamíferos mantidas em cultura.

De acordo com Birungi et al. (2007), os efeitos do Mn não é dependente apenas da sua concentração total, mas sim da concentração do manganês oxidado, pois esta forma é mais

disponível. Altas concentrações de cloretos, nitratos e sulfatos podem aumentar a solubilidade do Mn e, conseqüentemente, aumentar sua mobilidade na água e, conseqüentemente, o seu consumo pelas plantas.

Em relação aos peixes, altas concentrações de íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) competem com os íons Mn, durante a absorção pela superfície branquial, diminuindo a biodisponibilidade do Mn e seus efeitos nestes organismos (SEYMORE et al., 1995).

### 3.17. Mercúrio (Hg)

Atividades antropogênicas como a queima de combustíveis fósseis, a incineração de lixo e a mineração são as principais fontes responsáveis pelo lançamento do mercúrio no ambiente. Este elemento é altamente tóxico, portanto deletério para os organismos (BHOWMIK; PATRA, 2013).

Os corpos d'água ainda podem receber o Hg por deposições atmosféricas. Uma vez na água, este metal pode se incorporar nas teias alimentares aquáticas, logo após a conversão do Hg inorgânico em metilmercúrio (MeHg) por bactérias redutoras de sulfato (LARSON et al., 2014). O resultado desta conversão acaba sendo pior, pois o MeHg é mais tóxico do que sua forma isolada (Hg) (CHAPMAN, 1996). Contudo, o mercúrio já é reconhecidamente conhecido como um potente indutor de danos no sistema nervoso central e, por isso, uma potente neurotoxina. Altas concentrações de mercúrio podem causar comprometimento das funções pulmonares e renais, dores no peito e dispnéia e severos efeitos neurotóxicos. O exemplo clássico de contaminação por Hg foi registrado no Japão, onde pessoas que consumiram peixes contaminados com Hg (pescados na baía de Minamata) morreram em decorrência desta contaminação (FU; WANG, 2011).

Este contaminante, quando presente em ambiente aquáticos, é passível de ser biomagnificado por meio da cadeia alimentar (CHAPMAN, 1996). Melo et al. (2013) também demonstraram o impacto de mineradoras de ouro no Brasil sobre três espécies de peixes topo de cadeia alimentar dos rios do Amazonas, ao apresentarem altos índices de micronúcleos, devido à exposição ao Hg. Larson et al. (2014) também demonstraram que o padrão de cheias nos rios amazônicos carrega o Hg presente no solo para o leito dos rios, impactando as espécies de peixes locais.

De acordo com Bhowmik; Patra (2013), existem vários experimentos sobre a toxicidade do Hg, especialmente do MeHg, realizados, principalmente, com peixes e bactérias. No entanto, poucos são os trabalhos que avaliaram estes efeitos em mamíferos. Estes autores testaram o cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ) em ratos e mostraram que a exposição crônica, mesmo em baixas

concentrações, foi capaz de induzir frequências significativas de aberrações cromossômicas e danos ao DNA, avaliado pelo ensaio do cometa.

### 3.18. Níquel (Ni)

O níquel é abundantemente disponível na crosta terrestre e, por isso, é possível encontrar concentrações naturais deste elemento no solo e na água, sem oferecer riscos biológicos. No entanto, uma vez no meio ambiente, o Ni é rapidamente complexado com diversos ligantes e torna-se um dos metais mais móveis e, quando em altas concentrações, pode ser tóxico para a biota e para os seres humanos (MANSOURI et al., 2012). Este elemento químico, na forma do íon  $Ni^{2+}$ , é proveniente, principalmente, do efluente líquido de indústrias de galvanoplastia, de eletrônicos e da limpeza de metais, cujas altas concentrações causam sérios problemas de poluição (BORBA et al., 2006).

Quando consumido além dos níveis críticos, o Ni pode induzir sérios problemas pulmonares e renais, além de provocar danos ao sistema gastrointestinal, fibrose pulmonar e dermatite (BORBA et al., 2006). Também foram registrados problemas imunológicos, neurológicos e reprodutivos em seres humanos, mas o efeito mais sério é provocado mediante a exposições crônicas, com a indução de câncer de pulmão e do seio nasal (CARMONA et al., 2011). Deste modo, baseados em estudos com seres humanos e outros animais, a Agência Internacional para a Pesquisa sobre Câncer (IARC) classificou os compostos que possuem Ni (e não o Ni metálico) como carcinogênicos (International Agency for Research on Cancer (IARC, 1990). Apesar de Hartwig et al. (1994) afirmarem que este metal é um agente genotóxico fraco, Carmona et al. (2011) discutem o efeito genotóxico do Ni, pelo fato de diversos trabalhos realizados com diferentes organismos-teste divergirem sobre a genotoxicidade deste metal. Alguns trabalhos apontam como um agente potencialmente genotóxico, enquanto outros são contrários. Estes autores ainda discutem que há a possibilidade do Ni estar envolvido com a inibição do sistema de reparo do DNA, o que acarretaria na genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade do mesmo.

De acordo com Hartwig (1995), alguns estudos demonstraram que o Ni foi capaz de induzir quebras de fitas de DNA, formação de espécies reativas de oxigênio e consequente dano ao DNA e interferir no reconhecimento e reparo do dano por incisão. Carmona et al. (2011) testou o efeito genotóxico e mutagênico do cloreto de níquel ( $NiCl_2$ ) e do sulfato de níquel ( $NiSO_4$ ) pelo teste de manchas da asa de *Drosophila melanogaster* (teste SMART), que detecta principalmente recombinações somáticas. Estes autores concluíram que estes compostos não induziram alterações mutagênicas no organismo-teste, porém, pelo ensaio do cometa com



hemócitos, apenas o  $\text{NiSO}_4$  apresentou-se genotóxico. No estudo realizado por Bianchi et al. (2011), as águas do rio Monjolinho, em São Carlos, Brasil, contaminadas com níquel, induziram aberrações cromossômicas em *A. cepa*, evidenciando o impacto deste metal nos recursos hídricos.

Além de danos genotóxicos e mutagênicos, o Ni também é capaz de provocar a mortalidade de peixes no ambiente aquático, dependendo de sua concentração. Sveciavičius (2010) testou a toxicidade aguda do Ni em cinco espécies de peixes de água doce e concluiu que a concentração letal (CL50) variou entre 19,3 e 61,2 mg/L. No trabalho de Mansouri et al. (2012) foi verificada a bioacumulação do Ni em *Capoeta fusca*, de modo diretamente proporcional a concentração e ao tempo de exposição, sendo que as brânquias foram determinadas como órgão alvo de acúmulo e eliminação do metal.

Embora no trabalho de Carmona et al. (2011), o  $\text{NiCl}_2$  não tenha demonstrado efeito genotóxico, o trabalho de Seoane; Dulout (1999) faz referência a outros estudos que comprovam esta atividade em células de mamíferos, inclusive para células humanas. No entanto, nos próprios resultados obtidos por Seoane; Dulout (1999), o Ni apresentou-se como o elemento mais fraco na indução de genotoxicidade, quando comparado com os efeitos desencadeados pelo o cádmio e o potássio.

### 3.19. Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento essencial para os organismos vivos, pois é um constituinte importante das proteínas e do material genético. Alguns organismos, como algumas plantas e alguns microrganismos específicos, fazem a conversão do nitrogênio inorgânico em nitrogênio orgânico, pelo ciclo do nitrogênio.

No ambiente, o nitrogênio existe na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e nitrogênio molecular ( $\text{N}_2$ ). No caso da amônia, ela ocorre naturalmente nos corpos d'água, pela produção a partir da quebra de compostos nitrogenados, da excreção realizada pela biota e pela redução do gás nitrogênio feita por microrganismos (CHAPMAN, 1996).

Águas limpas possuem de 2 a 3 mg/L de amônia e valores superiores a esses determinam um ambiente que recebe efluentes domésticos e industriais, além de fertilizantes das zonas rurais (CHAPMAN, 1996). De acordo com Schram et al. (2010), taxas elevadas de amônia na água levam ao rápido acúmulo de amônia no plasma e nos tecidos dos peixes, em sua forma iônica ( $\text{NH}_4^+$ ), que, em altos níveis, podem provocar neurotoxicidade.

Águas poluídas e despejos industriais geralmente elevam as concentrações de nitrito no ambiente, quando há muita amônia sendo oxidada (AVILEZ et al., 2012).

Quando os níveis de nitrito são altos no ambiente, os peixes apresentam elevados níveis de nitrato no plasma, devido a um mecanismo de defesa intrínseco que possuem, já que o nitrato é menos tóxico (DOBLANDER; LACKNER, 1997). No entanto, diferentes espécies de peixes possuem diferentes níveis de resistência ao nitrito (ROQUES et al., 2013), ou seja, no caso de águas contaminadas com níveis elevados, o nitrito poderá induzir um desequilíbrio ecológico.

O nitrito é muito tóxico para os organismos vivos, principalmente para os peixes, que o absorvem pelas células clorídricas existentes nas brânquias e, na corrente sanguínea converte a hemoglobina em metahemoglobina, impossibilitando o transporte do oxigênio (ROQUES et al., 2013). No entanto, a formação da metahemoglobina é também reconhecida em outros animais, inclusive seres humanos, cuja doença recebe o nome de metahemoglobinemia ou “síndrome do bebê azul”, devido à maior incidência registrada em crianças de até 3 meses de idade (KERSTAWILSON, 2007). De acordo com Fewtrell (2004), a alta concentração de nitrito, ingerida pela água potável, é convertida em nitrato pelas bactérias endógenas do intestino. O nitrato oxida o ferro da hemoglobina e a inutiliza para o transporte de oxigênio, provocando cianose, estupor e anoxia cerebral.

O nitrato, quando presente em altas concentrações no ambiente, pode ser acumulado pelas plantas e introduzido à cadeia trófica. No entanto, na presença de luz solar, as plantas são capazes de reduzir o nitrato a amônia, e esta é incorporada a proteínas e outras moléculas mais complexas (MENSINGA et al., 2003). Para seres humanos, o risco da concentração acentuada do nitrato do ambiente é também o desenvolvimento da metahemoglobinemia, mas quando presente na circulação de uma gestante, o nitrato pode passar para o feto pela placenta, provocando aborto (MANASSARAM et al., 2007).

Os nitratos podem ser lançados nos rios pelo carreamento de fertilizantes a base de nitrogênio, de resíduos provenientes da criação de aves e de processos agrônômicos, assim como o lixiviado de resíduos domésticos também pode contribuir para o aumento dos níveis de nitratos e outros compostos nitrogenados no leito dos rios (OSIBANJO et al., 2011).

### **3.20. Potássio (K)**

O potássio é encontrado em baixas concentrações (< 10 mg/L), sob a sua forma iônica  $K^+$ , em águas naturais, já que as rochas compostas por potássio são relativamente resistente aos intemperismos. Entretanto, sais de potássio são altamente solúveis e muito utilizados nas indústrias e em fertilizantes aplicados na agricultura, tornando possível sua entrada nos corpos d'água pelo carreamento das áreas de plantio ou por efluentes industriais (CHAPMAN, 1996). Dentre os sais de potássio, o bromato de potássio ( $KBrO_3$ ) é um aditivo alimentar comumente

utilizado na produção de pães, cervejas e queijos, mas também utilizado na indústria dos cosméticos (AHMAD et al. 2013). No entanto, o bromato de potássio presente na água é oriundo, principalmente, do tratamento de desinfecção da água por ozonização, onde este subproduto pode ser formado e detectado na água potável (AHMAD et al., 2012).

Segundo Ahmad et al. (2013) o  $\text{KBrO}_3$  é prejudicial à saúde humana, por ser nefrotóxico, pois os rins são os alvos primários da ação deste composto. Ainda, estes mesmos autores relatam que o fígado, a tireóide e os testículos podem ser afetados, já que estudos em roedores mostram que há a incidência de tumores nestes órgãos.

De acordo com Chapman (1996), o potássio e seus sais são rapidamente incorporados às estruturas minerais do ambiente e acumulados pela biota aquática, já que ele é um elemento nutricional essencial.

Os efeitos genotóxicos e mutagênicos tem sido estudados e revelados por alguns estudos. O trabalho de Ahmad et al. (2013) demonstrou o potencial genotóxico do bromato de potássio sobre as células de intestino de ratos, *in vivo*, após uma única administração oral desta substância. Os autores sugerem que os danos induzidos pelo bromato de potássio foram produzidos por espécies reativas de oxigênio. Este efeito foi confirmado por Zhang et al. (2011), que também observaram o potencial genotóxico e mutagênico induzido por estresse oxidativo.

Priestley et al. (2010) verificaram o potencial genotóxico do  $\text{KBrO}_3$  sobre células de camundongos, *in vitro*, porém os autores destacam que os danos genotóxicos foram observados apenas por algumas técnicas, enquanto outras demonstraram-se negativas. Efeitos mutagênicos do  $\text{KBrO}_3$  foram observados por Kaya; Topaktaş (2007), por meio da análise de linfócitos periféricos em seres humanos. Os autores verificaram um aumento significativo da frequência de micronúcleos.

Em relação aos efeitos de compostos de potássio sobre vegetais, Gömürgen (2005) reportou os efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de dois preservantes alimentícios, o metabissulfito de potássio e o nitrato de potássio, sobre o organismo-teste *Allium cepa*. Neste estudo, estes compostos inibiram a divisão celular dos meristemas, reduzindo o índice mitótico, e induziram frequências significativas de aberrações cromossômicas e de micronúcleos.

### 3.21. Sódio (Na)

Todos os recursos hídricos apresentam um pouco de sódio, uma vez que os sais de sódio são altamente solúveis e este é um dos elementos químicos mais abundantes na Terra. O sódio pode ser encontrado em sua forma iônica ( $\text{Na}^+$ ), pois este é um elemento essencial para os organismos vivos, como plantas e animais (CHAPMAN, 1996).

A concentração de sódio em águas superficiais pode aumentar quando existem lançamentos de esgoto e efluentes industriais não tratados. Assim como acontece em locais de lançamentos de efluentes, regiões com precipitação frequente de neve pode também apresentar contaminação dos seus corpos d'água pelo cloro, inclusive das águas subterrâneas, pois há neste locais a aplicação de cloreto de sódio (NaCl) para forçar o derretimento da neve. Em regiões costeiras, onde há entrada de água do mar nos corpos de água doce também pode haver aumento na concentração de sódio (CHAPMAN, 1996). De acordo com Suwannopadol et al. (2012), indústrias de processamento de frutos do mar manipulam matérias-primas ricas em Na, cujos efluentes também podem conter concentrações excessivas de sais. Além disso, existem indústrias que fazem uso de substâncias alcalinas (como NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e NaHCO<sub>3</sub>), para neutralizar a acidez de algumas soluções (SUWANNOPPADOL et al., 2012).

Apesar do sódio ser essencial para o crescimento bacteriano, seu excesso pode induzir o estresse osmótico nestes organismos, o que culmina na redução das atividades celulares e na plasmólise das células (SUWANNOPPADOL et al., 2012).

Alguns compostos formado pelo Na possuem a capacidade de induzir alterações nos organismos vivos, como é o caso do fluoreto de sódio (NaF), um sal muito utilizado na profilaxia de cáries dentárias e no processo de fluoretação do tratamento de água. Entretanto, esta substância, mesmo em baixas concentrações, foi capaz de induzir danos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em diversos organismos, principalmente por meio de estresse oxidativo (J et al., 2013).

O metabissulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) é um agente redutor muito utilizado como uma substância anticloretos, antioxidante e sulfonante. Devido às suas propriedades, este composto tem sido utilizado em indústria alimentícia, contra a proliferação de microrganismos, ou seja, um preservante alimentício (CARVALHO et al., 2011a). Outro uso desta substância acontece durante a coleta de camarões, pois ela evita o aparecimento de manchas negras no tecido do animal, o que poderia prejudicar a qualidade e o comércio deste produto (CARVALHO et al., 2011b). No entanto, o estudo realizado por estes autores demonstrou que os efluentes provenientes desta prática impactam os vegetais da região, já que houve inibição do crescimento e do índice mitótico das raízes de *Allium cepa*, sugerindo toxicidade e citotoxicidade.

Os efeitos genotóxicos e mutagênicos do metabissulfito de sódio também foram observados no trabalho de Carvalho e colaboradores (2011a), por meio da exposição oral deste químico em camundongos.

### 3.2.2. Zinco (Zn)

O zinco é um elemento essencial para a saúde humana, pois é importante para as funções fisiológicas dos tecidos vivos e para o equilíbrio e regulação e muitos processos bioquímicos. Porém, em excesso, o Zn pode causar problemas de saúde como cólicas estomacais, irritações cutâneas, vômitos, náuseas e anemia (OYARO et al., 2007).

As bactérias são os organismos mais afetados pelo Zn, quando comparado com os outros organismos vivos. Elas ainda são os principais responsáveis pela autodepuração nos ambientes de água doce (CHAPMAN, 1996). Assim, contaminações por zinco podem caracterizar um problema de ordem ambiental. Desta forma, quando se pensa no ambiente como um todo, os limites de Zn no ambiente devem ser pensados de acordo com a sensibilidade das bactérias, pela importância deste organismos na manutenção do equilíbrio do ecossistema (CHAPMAN, 1996).

A concentração que provoca a toxicidade do Zn depende da concentração de Ca e de condições ambientais ideais, já que o Zn solúvel é encontrado em abundância em situações de oxidação elevada e pH de 5,0 a 6,5, enquanto é mais difícil encontrá-lo nesta forma em ambiente de pH 8,0 ou em ambiente moderadamente ou fortemente redutor, mesmo com pHs entre 5,0 e 6,5 (CHAPMAN, 1996; BIRUNGI et al., 2007; DE SCHAMPHELAERE; JANSSEN, 2010).

Os peixes possuem as brânquias como via de entrada de diversos metais, inclusive do Zn. Quando o Zn é encontrado em altas concentrações, este metal pode prejudicar este tecido, por meio da separação do epitélio, do aumento das lamelas primárias e secundárias e da oclusão dos espaços centrais de passagem de sangue, o que resulta na redução do consumo de oxigênio e na habilidade de transportar íons pela superfície branquial (BIRUNGI et al., 2007).

Apesar de as brânquias serem a porta de entrada dos metais, o Zn acumula-se no fígado, o que demonstra a eficiência deste órgão na detoxificação do organismo, por meio da ligação com as metalotioneínas e do armazenamento do agente tóxico. Além disso, foi verificado que os músculos não acumulam grandes quantidades do Zn, o que indica que os peixes contaminados com Zn podem ser seguros para o consumo (BIRUNGI et al., 2007).

Harmon; Wiley (2011) descreve em seu trabalho que os organismos-teste *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia pulex*, expostas ao cloreto de zinco por 30 dias, tiveram a densidade e a taxa de crescimento populacional prejudicados por esta substância.

De maneira mais específica, o Zn também foi capaz de induzir efeitos epigenéticos em *Daphnia magna*, com a supressão de genes ligados à transcrição e tradução, e superexpressão de genes ligados ao estresse oxidativo e ao metabolismo. Estes efeitos ainda persistiram em duas gerações subsequentes, não expostas ao Zn (VANDEGEHUCHTE et al., 2010).

#### 4. Considerações finais e conclusões

Todos os corpos d'água estão interligados, da atmosfera ao oceano, via o ciclo da água, porém os recursos hídricos continentais (principalmente rios, lagos e águas subterrâneas) estão estreitamente relacionados entre si. Embora exista uma influência mútua entre eles, há uma divergência nas propriedades hidrodinâmicas dos mesmos.

Conforme Chapman (1996), os rios são caracterizados por uma corrente unidirecional, cujo fluxo é relativamente alto, mas variável com o tempo e dependente do clima e do padrão de drenagem. Geralmente há uma mistura aprimorada e contínua na coluna d'água dos rios, devido à corrente e à turbulência. Já os lagos são caracterizados por um fluxo lento e multidirecional, fazendo com que a água resida neste local por longos períodos. Existem padrões de estratificação com mistura vertical da água, cuja periodicidade depende das condições climáticas e da profundidade do lago. Por último, as águas subterrâneas são caracterizadas por um fluxo tranquilo e muito lento, com velocidade inferior a dos lagos, pois é regido pela porosidade e permeabilidade do solo e das rochas. Quase não existe mistura vertical nestas águas, mas sua dinâmica pode ser muito diversificada, de acordo com a formação geológica.

Desta forma, quando se tem a intenção de realizar análises físicas e químicas de um ambiente aquático e avaliar um possível impacto antrópico, o tipo de corpo hídrico tem que ser levado em consideração, para que um resultado não seja superestimado ou subestimado.

De acordo com Agarwal; Saxena (2011), vários pesquisadores tentam checar a qualidade de água apenas pelos parâmetros físicos e químicos. Porém, alguns fazem relações empíricas para realizar essa avaliação, mas nenhum deles estabelece uma correlação entre os parâmetros e como eles poluem a água. Outros autores tentam estabelecer índices de qualidades de água, como uma forma de transformar a avaliação da qualidade das águas superficiais em uma expressão numérica. Segundo Debels et al. (2005), o índice de qualidade de água torna o entendimento de diversas informações mais fácil e rápido, principalmente quando a informação deve ser transmitida a grandes públicos.

A poluição de um rio afeta primeiramente suas características físicas e químicas e depois destrói, sistematicamente, a comunidade aquática, comprometendo a cadeia alimentar e colocando a saúde pública em risco. Diversos usos dos rios estão intimamente ligados com o aumento da poluição e, por isso, quando uma atividade poluidora é estabelecida em uma região, a avaliação e o monitoramento da qualidade do ambiente devem ser imediatos, para evitar o prejuízo das populações humanas e dos ecossistemas localizados à jusante (JINDAL; SHARMA, 2010).

A partir das informações pesquisadas, observa-se a importância da avaliação da qualidade da água, já que esse recurso mineral vital tem sua disponibilidade restrita e está cada vez mais sujeita à influência antrópica.

Atualmente temos diversas ferramentas, inclusive de alta tecnologia, que podem ser aplicadas para evitar a contaminação e/ou promover a recuperação dos recursos hídricos. Sabe-se que a biorremediação, aplicada a solos e águas residuárias, tem sido a melhor forma de se recuperar ambientes impactados. Os pesquisadores têm desenvolvido novos métodos, modelos matemáticos, ferramentas de monitoramento automatizado e, com isso, estão adquirindo novos conhecimentos na área da preservação ambiental. No entanto, estas informações devem ser disseminadas com muito esforço, para que, tanto os países desenvolvidos quanto aqueles ainda em desenvolvimento, possam assegurar a saúde ambiental.

Além disso, deve existir um maior empenho no uso e interpretação dos dados adquiridos por meio destas análises, de modo que essas não sejam executadas apenas para cumprir as legislações vigentes, mas que possam realmente colaborar no entendimento das causas e consequências sobre a biota. As entidades governamentais devem, além de regulamentar o uso das águas pelas atividades industriais, agronômicas e domésticas, fortalecer a fiscalização, quanto ao cumprimento da legislação.

Quanto à legislação, esta deve ser mantida atualizada, pois a ciência está constantemente levantando novas informações pertinentes à preservação, que devem ser sempre incorporadas, para assegurar a boa qualidade ambiental. Ainda, as leis devem ser elaboradas/revisadas por um grupo de pessoas que tenha domínio ou relação com a área das ciências ambientais, de modo que não sejam baseadas apenas em fatores socioeconômicos.

Hoje, a humanidade possui meios para preservar os últimos recursos hídricos isentos de contaminação e recuperar aqueles já impactados, bem como buscar por fontes alternativas de água para aquelas regiões onde realmente não exista a disponibilidade de águas doces.

## 5. Referências Bibliográficas

ABADIN, H.; ASHIZAWA, A.; STEVENS, Y.-W.; et al. **Toxicological Profile for Lead**. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2007.

ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Aluminium-induced DNA damage and adaptive response to genotoxic stress in plant cells are mediated through reactive oxygen intermediates. **Mutagenesis**, v. 25, n. 2, p. gep063–209, 2009.

AGARWAL, A.; SAXENA, M. Assessment of pollution by physicochemical water parameters using regression analysis: a case study of Gagan river at Moradabad-India. **Advances in Applied Science Research**, v. 2, n. 2, p. 185–189, 2011.

AHMAD, M. K.; NAQSHBANDI, A.; FAREED, M.; MAHMOOD, R. Oral administration of a nephrotoxic dose of potassium bromate, a food additive, alters renal redox and metabolic status and inhibits brush border membrane enzymes in rats. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 980–985, 2012.

AHMAD, M. K.; ZUBAIR, H.; MAHMOOD, R. DNA damage and DNA–protein cross-linking induced in rat intestine by the water disinfection by-product potassium bromate. **Chemosphere**, v. 91, n. 8, p. 1221–1224, 2013.

AHMED, M. K.; PARVIN, E.; ARIF, M.; et al. Measurements of genotoxic potential of cadmium in different tissues of fresh water climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch), using the comet assay. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 80–84, 2010.

ARAÚJO, C. S. T. **Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico do efluente de uma refinaria de petróleo e dos rios sob sua influência, por meio de bioensaios com *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae)**. 2013. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP.

AVILEZ, I. M.; DE AGUIAR, L. H.; HORI, T. S.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829), exposed to environmental nitrite. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 4, p. 596–603, 2012.

BARABASZ, W.; ALBINSKA, D.; JÁSKOWSKA, M.; LIPIEC, J. Ecotoxicology of Aluminium. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 11, n. 3, p. 199–203, 2002.

BERG, D.; GERLACH, M.; YODIM, M. B.; et al. Brain iron pathways and their relevance to Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 79, n. 2, p. 225–236, 2001.

BERGQUIST, E. R.; FISCHER, R. J.; SUGDEN, K. D.; MARTIN, B. D. Inhibition by methylated organo-arsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenase. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, p. 973–980, 2009.

BHOWMIK, N.; PATRA, M. Assessment of genotoxicity of inorganic mercury in rats in vivo using both chromosomal aberration and comet assays. **Toxicology and Industrial Health**, p. 1–7, 2013. DOI: 10.1177/0748233712469656.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826–833, 2011.

BIRUNGI, Z.; MASOLA, B.; ZARANYIKA, M. F.; NAIGAGA, I.; MARSHALL, B. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 32, n. 15–18, p. 1350–1358, 2007.



BORBA, C. E.; GUIRARDELLO, R.; SILVA, E. A.; VEIT, M. T.; TAVARES, C. R. G. Removal of nickel(II) ions from aqueous solution by biosorption in a fixed bed column: Experimental and theoretical breakthrough curves. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, n. 2, p. 184–191, 2006.

CAO, J.; CHEN, J.; WANG, J.; et al. Effects of fluoride on liver apoptosis and Bcl-2, Bax protein expression in freshwater teleost, *Cyprinus carpio*. **Chemosphere**, v. 91, n. 8, p. 1203–1212, 2013.

CARMONA, E. R.; CREUS, A.; MARCOS, R. Genotoxic effects of two nickel-compounds in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 718, n. 1-2, p. 33–37, 2011.

CARVALHO, I. M. C. M. M.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; DANTAS, A. F.; et al. Genotoxicity of sodium metabisulfite in mouse tissues evaluated by the comet assay and the micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 720, n. 1-2, p. 58–61, 2011a.

CARVALHO, I. M. D. C. M. M.; CAVALCANTE, A. A. M.; DANTAS, A. F.; et al. Environmental mutagenicity and toxicity caused by sodium metabisulfite in sea shrimp harvesting in Piauí-, Brazil. **Chemosphere**, v. 82, n. 7, p. 1056–1061, 2011b.

CAZOTTI, C. A.; FRANCISCO, K. M. S.; FILHO, D. L. G.; PRESTA, A. A.; MOIMAZ, S. A. S. Fluoride content in water of shallow wells. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, p. 494–499, 2012.

CETESB, **Relatório de qualidade de águas superficiais no estado de São Paulo - 2009**, São Paulo, 310 p., 2010.

CETESB, **Águas superficiais – Variáveis de qualidade das águas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. 2014. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas>. Acesso em 14 out. 2014.

CETESB, 2012. FIT – Ficha de informação toxicológica. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/bario.pdf>. Acesso em 14 out. 2014.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring - Second Edition**. 2nd ed. London: E&FN Spon - Chapman & Hall, 1996.

CHAPMAN, P. M.; BAILEY, H.; CANARIA, E. Toxicity of total dissolved solids associated with two mine effluents to chironomid larvae and early life stages of rainbow trout. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 210–214, 2000.

CHAU, N.; BENAMGHAR, L.; PHAM, Q. T.; et al. Mortality of iron miners in Lorraine (France): relations between lung function and respiratory symptoms and subsequent mortality. **British journal of industrial medicine**, v. 50, n. 11, p. 1017–1031, 1993.

CHINDE, S.; KUMARI, M.; DEVI, K. R.; et al. Assessment of genotoxic effects of lead in occupationally exposed workers. **Environmental science and pollution research international**, v. 21, n. 19, p. 11469–11480, 2014.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1707–1719, 2006.

DE ANDRADE, V. M.; DE FREITAS, T. R. O.; SILVA, J. Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. **Mutation research**, v. 560, n. 1, p. 57–67, 2004.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C.; JANSSEN, C. R. Cross-phylum extrapolation of the *Daphnia magna* chronic biotic ligand model for zinc to the snail *Lymnaea stagnalis* and the rotifer *Brachionus calyciflorus*. **Science of the total environment**, v. 408, n. 22, p. 5414–5422, 2010.

DEBELS, P.; FIGUEROA, R.; URRUTIA, R.; BARRA, R.; NIELL, X. Evaluation of water quality in the Chillán River (Central Chile) using physicochemical parameters and a modified water quality index. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 110, n. 1-3, p. 301–322, 2005.

DOBLANDER, C.; LACKNER, R. Oxidation of nitrite to nitrate in isolated erythrocytes: a possible mechanism for adaptation to environmental nitrite. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 54, n. 1, p. 157–161, 1997.

DÜSMAN, E.; FARIA, J. S. DE; TOLEDO, F.; et al. Vegetal test-system investigation on cytotoxicity of water from urban streams located in the northeastern region of Maringá, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, 2011.

EISSA, B. L.; OSSANA, N. A.; FERRARI, L.; SALIBIAN, A. Quantitative Behavioral Parameters as Toxicity Biomarkers: Fish Responses to Waterborne Cadmium. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 4, p. 1032–1039, 2010.

FEWTRELL, L. Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 14, p. 1371–1374, 2004.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal of Environmental Management**, 2011.

GABBIANELLI, R.; LUPIDI, G.; VILLARINI, M.; FALCIONI, G. DNA Damage Induced by Copper on Erythrocytes of Gilthead Sea Bream *Sparus aurata* and Mollusk *Scapharca inaequivalvis*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, n. 3, p. 350–356, 2003.

GERBER, G. B.; LÉONARD, A.; HANTSON, P. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 42, n. 1, p. 25–34, 2002.

GERTEL, P.; TORNISIELO, S.; MALAGUTTI, E. N. Water quality evaluation on São Joaquim and Ribeirão Claro stream, microbasin of Corumbatai river, São Paulo state, Brazil, **Holos Environment**, v. 3, n. 2, p. 130–350, 2003.

GHOSH, A.; MUKHERJEE, K.; GHOSH, S. K.; SAHA, B. Sources and toxicity of fluoride in the environment. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, n. 7, p. 2881–2915, 2013.

GÖMÜRGEN, A. N. Cytological Effect of the Potassium Metabisulphite and Potassium Nitrate Food Preservative on Root Tips of *Allium cepa* L. **Cytologia**, v. 70, n. 2, p. 119–128, 2005.

HARMON, S. M.; WILEY, F. E. Effects of Pollution on Freshwater Organisms. **Water Environment Research**, v. 83, n. 10, p. 1733–1788, 2011.

HARTWIG, A. Current aspects in metal genotoxicity. **Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine**, v. 8, n. 1, p. 3–11, 1995.

HARTWIG, A.; KRÜGER, I.; BEYERSMANN, D. Mechanisms in nickel genotoxicity: the significance of interactions with DNA repair. **Toxicology Letters**, v. 72, n. 1-3, p. 353–358, 1994.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 49-Chromium, nickel and welding**. Lyon. 1990.

J, M.; SINHA, S.; GHOSH, M.; MUKHERJEE, A. Evaluation of multi-endpoint assay to detect genotoxicity and oxidative stress in mice exposed to sodium fluoride. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 751, n. 1, p. 59–65, 2013.

JINDAL, R.; SHARMA, C. Studies on water quality of Sutlej River around Ludhiana with reference to physicochemical parameters. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 174, n. 1-4, p. 417–425, 2010.

JOMOVA, K.; JENISOVA, Z.; FESZTEROVA, M.; et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, p. 95-107, 2011.

KANU, I.; ACHI, O. K. Industrial effluents and their impact on water quality of receiving rivers in Nigeria. **Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation**, v. 1, n. 1, p. 75-86, 2011.

KASSIE, F. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 463, n. 1, p. 13–31, 2000.

KAYA, F. F.; TOPAKTAŞ, M. Genotoxic effects of potassium bromate on human peripheral lymphocytes in vitro. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, n. 1-2, p. 48–52, 2007.

KHEZAMI, L.; CAPART, R. Removal of chromium(VI) from aqueous solution by activated carbons: Kinetic and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 123, n. 1-3, p. 223–231, 2005.

KUMAR, V.; GILL, K. D. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: A review. **NeuroToxicology**, v. 41, p. 154-166, 2014.

LARSON, J. H.; MAKI, R. P.; KNIGHTS, B. C.; GRAY, B. R. Can mercury in fish be reduced by water level management? Evaluating the effects of water level fluctuation on mercury accumulation in yellow perch (*Perca flavescens*). **Ecotoxicology**, v. 23, n. 8, p. 1555–1563, 2014.

LEAL, F. C. T.; LIBÂNIO, M. Estudo da remoção da cor por coagulação química no tratamento convencional de águas de abastecimento. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 7, n. 3-4, p. 117–128, 2002.

LIMA, P.; VASCONCELLOS, M.; MONTENEGRO, R.; et al. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 10, p. 1435–1444, 2011.

MALIK, N.; DATE, A.; LEBLANC, J.; AKBARZADEH, A.; MEEHAN, B. Monitoring and maintaining the water clarity of salinity gradient solar ponds. **Solar Energy**, v. 85, p. 2987–2996, 2011.

MANASSARAM, D. M.; BACKER, L. C.; MOLL, D. M. A review of nitrates in drinking water: maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 153–163, 2007.

MANSOURI, B.; EBRAHIMPOUR, M.; BABAEI, H. Bioaccumulation and elimination of nickel in the organs of black fish (*Capoeta fusca*). **Toxicology and Industrial Health**, v. 28, n. 4, p. 361–368, 2012.

MANZANO, B. C.; ROBERTO, M. M.; HOSHINA, M. M.; MENEGÁRIO, A. A.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of São Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1–9, 2014. DOI: 10.1007/s11356-014-3476-5.

MATSUMOTO, S. T. **Efeitos tóxicos e genotóxicos de metais pesados, especificamente do cromo trivalente e hexavalente**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2003.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M.; et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and molecular biology**, v. 29, n. 1, p. 148–158, 2006.

MELO, K. M.; ALVES, I. R.; PIECZARKA, J. C.; et al. Profile of micronucleus frequencies and nuclear abnormalities in different species of electric fishes (Gymnotiformes) from the Eastern Amazon. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 3, p. 425–429, 2013.

MENSINGA, T. T.; SPEIJERS, G. J. A.; MEULENBELT, J. Health Implications of Exposure to Environmental Nitrogenous Compounds. **Toxicological Reviews**, v. 22, n. 1, p. 41–51, 2003.

MILLER, W. H. Jr; SCHIPPER, H. M.; LEE, J. S.; SINGER, J.; WAXMAN, S. Mechanisms of action of arsenic trioxide. **Cancer Research**, v. 62, p. 3893–3903, 2002.

MIR, M. I.; KHAN, S.; BHAT, S. A.; RESHI, A. A.; SHAH, F. A.; BALKI, M. H.; MANZOOR, R. Scenario of genotoxicity in fishes and its impact on fish industry. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, n. 6, p. 65–76. 2014.

MOHAMED, I.; OTHMAN, F.; IBRAHIM, A. I. N.; ALAA-ELDIN, M. E.; YUNUS, R. M. Assessment of water quality parameters using multivariate analysis for Klang River basin, Malaysia. **Environmental and Monitoring Assessment**, v. 187, p. 4182, 2015.

NASEEM, R.; TAHIR, S. S. Removal of Pb(II) from aqueous/acidic solutions by using bentonite as an adsorbent. **Water Research**, v. 35, n. 16, p. 3982–3986, 2001.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N. D.; BOEIRA, J. M. Genotoxicidade e Análises Físico-Químicas das águas do Rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15–22, 2012.

ORLOFF, K.; MISTRY, K.; METCALF, S. Biomonitoring for Environmental Exposures to Arsenic. **Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews**, v. 12, n. 7, p. 509–524, 2009.

OSIBANJO, O.; DASO, A. P.; GBADEBO, A. M. The impact of industries on surface water quality of River Ona and River Alaro in Oluyole Industrial Estate, Ibadan, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 696–702, 2011.

OYARO, N.; JUDDY, O.; MURAGO, E. N. M.; GITONGA, E. The contents of Pb, Cu, Zn and Cd in meat in Nairobi, Kenya. **Journal Of Food Agriculture And Environment**, v. 5, n. 3–4, p. 119–121, 2007.

PAULINO, A. T.; MINASSE, F. A. S.; GUILHERME, M. R.; et al. Novel adsorbent based on silkworm chrysalides for removal of heavy metals from wastewaters. **Journal of colloid and interface science**, v. 301, n. 2, p. 479–487, 2006.

PÉREZ-CHACA, M. V.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; MOLINA, A. S.; et al. Cadmium induces two waves of reactive oxygen species in *Glycine max* (L.) roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 7, p. 1672–1687, 2014.

PRIESTLEY, C. C.; GREEN, R. M.; FELLOWS, M. D.; et al. Anomalous genotoxic responses induced in mouse lymphoma L5178Y cells by potassium bromate. **Toxicology**, v. 267, n. 1-3, p. 45–53, 2010.

RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V.; et al. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 5, p. 1228–1233, 2010.

RASGELE, P. G.; KEKECOGLU, M.; GOKALP MURANLI, F. D. Induction of Micronuclei in Mice Bone Marrow Cells by Cobalt and Copper Chlorides. **Archives of Environmental Protection**, v. 39, n. 1, p. 75–82, 2013.

ROQUES, J. A. C.; SCHRAM, E.; SPANINGS, T.; et al. The impact of elevated water nitrite concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). **Aquaculture Research**, p. 1-12, 2013. DOI: 10.1111/are.12292.

SAMPAIO, S. C.; SILVESTRO, M. G.; FRIGO, E. P.; BORGES, C. M. Relação entre série de sólidos e condutividade elétrica em diferentes águas residuárias. **Irriga**, v. 12, n. 4, p. 557–562, 2007.

SANTAMARIA, A. B.; SULSKY, S. I. Risk Assessment of an Essential Element: Manganese. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 2-3, p. 128–155, 2010.

SANTOS, R.; PALOS-LADEIRO, M.; BESNARD, A.; REGGIO, J.; VULLIET, E.; PORCHER, J. M.; BONY, S.; SANCHEZ, W.; DEVAUX, A. Parental exposure to methyl methane sulfonate of three-spined stickleback: contribution of DNA damage in male and female germ cells to further development impairment in progeny. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 5, p. 815–824, 2013.

SCHRAM, E.; ROQUES, J. A. C.; ABBINK, W.; et al. The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture**, v. 306, n. 1-4, p. 108–115, 2010.

SEOANE, A. I.; DULOUT, F. N. Contribution to the validation of the anaphase-telophase test: aneugenic and clastogenic effects of cadmium sulfate, potassium dichromate and nickel chloride in Chinese hamster ovary cells. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 551–555, 1999.

SEYMORE, T.; PREEZ, DU, H. H.; VAN VUREN, J. Manganese, lead and strontium bioaccumulation in the tissues of the yellowfish, *Barbus marequensis* from the lower Olifants River, Eastern Transvaal. **Water SA**, v. 21, n. 2, p. 159-172, 1995.

SINHA, S.; SAXENA, R.; SINGH, S. Fluoride removal from water by *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle and its toxic effects. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 65, p. 683-690, 2000.

SUWANNOPPADOL, S.; HO, G.; CORD-RUWISCH, R. Overcoming sodium toxicity by utilizing grass leaves as co-substrate during the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 125, n. C, p. 188–192, 2012.

SVECEVIČIUS, G. Acute toxicity of nickel to five species of freshwater fish. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 19, n. 2, p. 453-456, 2010.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Copper in Drinking Water**. National Academy Press, 2005.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Spacecraft Water Exposure Guidelines for Selected Contaminants: Volume 2**. National Academy Press, 2006.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Nitrates and Nitrites. **Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health**, p. 1-14, 2007.

VANDEGEHUCHTE, M. B.; VANDENBROUCK, T.; CONINCK, D. D.; DE COEN, W. M.; JANSSEN, C. R. Can metal stress induce transferable changes in gene transcription in *Daphnia magna*? **Aquatic Toxicology**, v. 97, n. 3, p. 188-195, 2010.

VIGNATI, D. A. L.; DOMINIK, J.; BEYE, M. L.; PETTINE, M.; FERRARI, B. J. D. Chromium(VI) is more toxic than chromium(III) to freshwater algae: A paradigm to revise? **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 743-749, 2010.

WEBER-SCANNELL, P. K.; DUFFY, L. K. Effects of Total Dissolved Solids on Aquatic Organisms: A Review of Literature and Recommendation for Salmonid Species. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2007.

YILMAZ, H.; KETEN, A.; KARACAOGLU, E.; TUTKUN, E.; AKCAN, R. Analysis of the hematological and biochemical parameters related to lead intoxication. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 19, n. 8, p. 452-454, 2012.

YUSUFF, R. O.; SONIBARE, J. A. Characterization of textile industries' effluents in Kaduna, Nigeria and pollution implications. **Global Nest: the International Journal**, v. 6, n. 3, p. 212-221, 2004.

ZHANG, Y.; JIANG, L.; JIANG, L.; et al. Possible involvement of oxidative stress in potassium bromate-induced genotoxicity in human HepG2 cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 189, n. 3, p. 186-191, 2011.

ŽEGURA, B.; HEATH, E.; ČERNOŠA, A.; FILIPIČ, M. Combination of *in vitro* bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. **Chemosphere**, v. 75, p. 1453-1460, 2009.

WISE, S. S.; SCHULER, J. H. C.; KATSIFIS, S. P.; WISE, J. P. Barium chromate is cytotoxic and genotoxic to human lung cells. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 42, pp. 274-278, 2003.

WHO - World Health Organization. Barium and barium compounds. **Concise International Chemical Assessment Document**. Geneva, 52p. 2001.

WROBEL S. Aluminium in some surface waters in Poland. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny (Annals of the National Institute of Hygiene)**, v. 44, n. 1. P. 65-72, 1993.



## ARTIGO 2

**“O uso de *Oreochromis niloticus* na avaliação do impacto de uma refinaria de petróleo, por meio de análises citogenéticas correlacionadas com caracterização meteorológica e dados físicos e químicos.”**

Matheus Mantuanelli Roberto<sup>1</sup>, Cristiane Sueli Talhiaferro de Araújo<sup>1</sup>, Nádia Aline Corroqué<sup>1</sup>, Leonardo Ramos Anacleto<sup>1</sup>, Márcia Miyuki Hoshina<sup>1</sup>, Dejanira de Franceschi de Angelis<sup>2</sup>, Maria Aparecida Marin-Morales<sup>1\*</sup>.

1. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro/SP.

2. Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro/SP.

\*Autor correspondente: Avenida 24 A, 1515, Bela Vista, 13.506-900, Rio Claro/SP. E-mail: mamm@rc.unesp.br, TEL. +55 19 35264143.

## Resumo

Atualmente a humanidade enfrenta o desafio da escassez de águas doces de qualidade que estejam disponíveis para o consumo e, ao mesmo tempo, busca recursos e conhecimentos para evitar a contaminação ou promover a recuperação dos recursos hídricos. A indústria do petróleo utiliza grandes volumes de água para processar e transformar sua matéria-prima, o que acaba gerando efluentes ricos em contaminantes, mesmo depois de tratados. Este estudo teve como objetivo principal avaliar a eficiência do tratamento das águas servidas, realizado pela maior refinaria brasileira e, conseqüentemente avaliar os possíveis impactos de seus efluentes sobre os recursos receptores destes, por meio dos testes de anormalidades nucleares e do micronúcleo em *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae). Foram realizados dois tipos de exposição (*ex situ* e *in situ*), cujos resultados foram comparados, estatisticamente, entre si e com um controle negativo, bem como foram correlacionados com dados meteorológicos e características físicas e químicas sazonais da região, na tentativa de se determinar que tipo de relação pode ser estabelecida entre os principais fatores atuantes sobre o organismo-teste. Os resultados das análises físicas e químicas indicaram que poucos parâmetros estão em desacordo com a legislação brasileira. A análise dos parâmetros biológicos permitiram determinar que o efluente da refinaria pode estar associado a indução de alguns efeitos genotóxicos nos organismos testados, porém nenhum efeito mutagênico foi observado. Na busca de se determinar quais fatores ambientais podem ser os principais indutores desses danos biológicos, foi aplicado o teste correlação multivariada canônica. Este teste mostrou-se eficiente para a comparação dos grupos de variáveis estabelecidos, indicando a quais parâmetros os bioindicadores estão mais sujeitos a sofrerem maior influência.

**Palavras-chave:** peixes, micronúcleo, anormalidades nucleares, efluentes industriais, genotoxicidade, parâmetros físicos e químicos, pluviosidade.

## 1. Introdução

A disponibilidade de corpos de água doce de qualidade para consumo humano e para a sustentabilidade da biota dos ecossistemas é um dos maiores desafios da humanidade. Vários fatores podem estar relacionados com essa questão, como o crescimento populacional intenso, a urbanização, a transformação no uso da terra e a poluição (VIALLE et al., 2011). A contaminação dos ambientes aquáticos por despejos industriais, agrônômicos e domésticos resultam na mortalidade ou redução da fauna aquática e, por isso, o número de estudos que objetivam avaliar a genotoxicidade das águas poluídas aumentou (LEMOS et al., 2007).

De acordo com dados da EPA (USEPA, 2013), a indústria de refino do petróleo é a oitava, em uma lista de 27 tipos de indústrias, quanto ao lançamento de químicos no ambiente, sendo responsável, em 2013, pelo despejo de 30.856.699,60 kg de substâncias químicas. Neste contexto, El-Naas et al. (2014) afirmam que uma refinaria de petróleo pode ser uma grande consumidora de água e geradora de quantidades significativas de efluentes, e que esta alta produção não será, tampouco, reduzida, devido ao intenso consumo dos derivados do petróleo.

O efluente de uma refinaria de petróleo contém poluentes orgânicos e inorgânicos, como fenóis, óleos e graxas, sulfitos, amônia, metais pesados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Apesar de poderem ser removidos pelo tratamento realizado pela própria refinaria, algumas substâncias genotóxicas podem ainda permanecer no efluente e influenciar a biota aquática (HOSHINA et al., 2008; SOUZA; FONTANETTI, 2012).

Os peixes são importantes fontes de alimento para os seres humanos e, se contaminados, podem oferecer risco à saúde pública (SEVCIKOVA et al., 2011). Os peixes podem ainda ser utilizados como eficientes bioindicadores de poluição, principalmente de agentes genotóxicos, pois, além de entrarem em contato com poluentes da água pelas vias digestórias e dérmicas, o fazem também pela via respiratória, expondo as suas brânquias aos contaminantes, cujas respostas orgânicas podem ser facilmente observadas, características estas que os tornam recomendados como organismo teste de poluição hídrica. (DE FLORA et al., 1993). O teste do micronúcleo (MN), devido a sua simplicidade de aplicação, é uma das técnicas mais aplicadas para identificar alterações genômicas em organismos sujeitos à contaminação ambiental (BOLOGNESI; HAYASHI, 2010). De maneira complementar ao teste do MN, a avaliação da frequência de anormalidades nucleares (AN) também é considerada um método de investigação dos modos de ação de contaminantes ambientais sobre estes bioindicadores (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005; HOSHINA et al., 2008).

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade das águas de rios brasileiros, após receberem efluentes de uma grande refinaria de petróleo; a eficiência do tratamento usado pela refinaria e a influência das condições climáticas, físicas e químicas no impacto ambiental da região, utilizando-se o organismo-teste *Oreochromis niloticus*.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Caracterização da área de estudo**

A maior refinaria de petróleo do Brasil está localizada na cidade de Paulínia, em uma área situada entre os rios Jaguari e Atibaia, rios estes pertencentes à bacia do Piracicaba, Capivari e Jundiá (Bacia PCJ). Além desta região ser altamente industrializada e urbanizada, ela também

apresenta uma intensa atividade agrônômica. Embora os rios em questão sejam fontes para o abastecimento público para diversas cidades, eles recebem efluentes domésticos e industriais. Como a refinaria capta a água em um rio (Jaguari), e a utiliza no processo de refino, faz seu tratamento e, em seguida, a lança no outro rio (Atibaia), os pontos de coleta de água foram estabelecidos no rio Jaguari (CRJ), durante o sistema de tratamento do efluente realizado pela refinaria (TFQ, ETB e LE-E) e no rio Atibaia (MRA, JRA1 e JRA2).

Os pontos de coleta de água foram caracterizados do seguinte modo: CRJ - área de captação de água da refinaria no rio Jaguari; TFQ - saída do tratamento físico-químico e entrada do tratamento biológico; ETB - saída da estação de tratamento biológico e entrada da lagoa de estabilização; LE-E - saída da lagoa de estabilização (efluente tratado da refinaria); MRA - área do rio Atibaia a 200 metros a montante do local de despejo do efluente; JRA1 - área do rio Atibaia a 300 metros a jusante do local de despejo do efluente; JRA2 - área do rio Atibaia a 800 metros a jusante do local de despejo do efluente. A área da refinaria pode ser observada na figura 1.

As análises realizadas neste trabalho referem-se a coletas realizadas em 7 períodos sazonais consecutivos, totalizando 2 anos de monitoramento, como apresentado a seguir: primavera de 2011; verão, outono, inverno e primavera de 2012; verão e outono de 2013.

## 2.2. Análise dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos

As análises dos parâmetros físicos e químicos, e de contaminantes microbiológicos foram realizadas no Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP (campus de Rio Claro/SP) e no Centro de Estudos Ambientais (CEA - UNESP), pertencente ao mesmo campus da UNESP. Foram avaliados os parâmetros: turbidez, transparência, cor aparente, temperatura, condutividade, sólidos totais (S.T.), sólidos sedimentáveis (S.S.), matéria volátil, matéria residual fixa, oxigênio dissolvido (O.D.), demanda química de oxigênio (D.Q.O.), demanda bioquímica de oxigênio (D.B.O.), pH, cloretos totais, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, sulfetos, cianeto, íons (sódio, potássio, silício, magnésio, cálcio, estrôncio, alumínio, fósforo, ferro e bário), coliformes totais, coliformes termotolerantes (*E. coli*) e bactérias heterotróficas.

A análise de HPAs foi realizada por uma empresa terceirizada especializada, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, sendo apenas as amostras dos pontos LE-E, MRA e JRA2 analisadas. Foram avaliados os HPAs: cresóis totais, fenóis, BTEX, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, acenaftileno, pireno, acenafteno, fluoranteno, naftaleno, benzo(a)antraceno, fluoreno, antraceno, benzo(g,h,i)pirileno, fenantreno, dibenzo(a,h)antraceno, indeno(1,2,3,cd)pireno.

### 2.3. Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos, relativos às datas das coletas das amostras de água, foram obtidos junto à Estação Meteorológica do Centro de Análise e Planejamento Ambiental (CEAPLA/IGCE/UNESP), Rio Claro/SP.

### 2.4. Material biológico

O organismo-teste utilizado nos experimentos foi a espécie *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae), conhecida como tilápia nilótica. Espécimes juvenis, de tamanho próximo dos 10 cm, foram adquiridos em pisciculturas referenciadas da região, aclimatados por, no mínimo, 15 dias e mantidos nos tanques do Jardim Experimental da UNESP (campus de Rio Claro/SP), até seu processamento.

### 2.5. Bioensaio *ex situ*

Neste trabalho foram realizados dois tipos de exposição: *ex situ* e *in situ*. A exposição *ex situ* foi realizada com 20 litros de água previamente coletados nos pontos estabelecidos, trazidos para o laboratório e colocados imediatamente em aquários para aeração (*overnight*) e, posteriormente, para a exposição dos peixes. Foram utilizados, no total, oito aquários para a exposição dos peixes, sendo um para o controle negativo (CN - água de poço artesiano tratada e livre de cloro) e os demais para cada um dos pontos de coleta de água.

Como a toxicidade das amostras de água do TFQ já era conhecida, a mesma foi diluída na proporção de 2:1 (2 partes de água de poço: 1 parte de amostra bruta do TFQ). Seguindo a literatura para exposição *ex situ* de peixes em amostras ambientais (SOUZA; FONTANETTI, 2006; HOSHINA et al., 2008), foram colocados, por um período de 72 horas, sete peixes em cada um dos aquários. A exposição foi realizada em uma sala do biotério da UNESP (campus de Rio Claro/SP), com temperatura controlada a 26°C e com fotoperíodo de 12 h de claro e escuro.

### 2.6. Bioensaio *in situ*

As exposições *in situ* foram realizadas pela exposição direta de espécimes de *O. niloticus* em dois pontos do rio Atibaia (MRA e JRA1). Os peixes foram transportados, até os locais de exposição, em caixas plásticas apropriadas, devidamente aeradas. Duas gaiolas metálicas foram utilizadas para o acondicionamento dos peixes no rio, sendo colocados 10 espécimes em cada uma delas, por um período de 72 horas.

## 2.7. Teste do micronúcleo e de anormalidades nucleares

Depois do período de exposição, os peixes foram submetidos à punção cardíaca, utilizando-se seringas de 1 mL previamente heparinizadas, para a coleta de amostras de sangue a serem usadas na confecção de 4 lâminas (extensões sanguíneas) por peixe. Depois de secas, as lâminas foram fixadas em etanol absoluto por 10 minutos. Depois de 24 horas, o material foi hidrolisado em HCl 1N, a 60°C, por 11 minutos e, imediatamente, submetidas ao reativo de Schiff, por duas horas.

Durante a análise, foram considerados parâmetros de citotoxicidade (morte celular – núcleo heteropícnótico, vacuolização de núcleo ou citoplasma e fragmentação nuclear), genotoxicidade (anormalidades nucleares – invaginação e evaginação do envoltório nuclear, broto nuclear e células binucleada) e mutagenicidade (micronúcleo).

As análises das lâminas foram realizadas pela contagem de 1.500 eritrócitos por espécime (500 células por lâmina, sendo três lâminas por peixe), totalizando 7.500 células analisadas por amostra de água coletada ou para cada ponto de exposição. Os eritrócitos foram analisados por microscópio de luz em aumento de 1.000x.

## 2.8. Análises estatísticas

Inicialmente, foram comparados os dados obtidos em cada um dos pontos de coleta de uma mesma estação do ano com os obtidos no teste CN, da mesma estação climática. Para isso, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn de comparação múltipla, com a confiabilidade de 95% ( $p < 0,05$ ), por meio do software GraphPad Prism 6.00 para Mac OS X (GraphPad Software – La Jolla, California, EUA).

Os dados obtidos pelo experimento *in situ* foram comparados entre si (MON e JUS), pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, com a confiabilidade de 95% ( $p < 0,05$ ).

Depois de realizados os testes estatísticos iniciais, foram realizadas duas correlações com esses dados, para verificar se algum dos parâmetros investigados poderia estar mais relacionado com os danos observados no organismo-teste. As correlações foram baseadas em uma comparação mais complexa, envolvendo tanto os dados biológicos com os parâmetros físicos e químicos, como os dados biológicos com os parâmetros meteorológicos. As correlações foram consideradas fortes para valores de  $r$  menores ou iguais a -0,5 (correlação negativa) ou para valores de  $r$  maiores ou iguais a 0,5 (correlação positiva), conforme recomendação do software utilizado. Para isso, foi utilizada a análise por correlação multifatorial canônica (CCA), feita pelo software XLSTAT®, versão 2014.4.09 (Addinsoft S.A.R.L. – Paris, França), incorporado como

macro ao Microsoft Excel®, versão 2011 para Mac OS X (Microsoft Corporation – Redmond, EUA).

### 3. Resultados e discussão

Os resultados dos dados físicos e químicos foram obtidos pela análise das águas coletadas no rio Jaguari e Atibaia. Os resultados da análise de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, foram obtidos por meio da exposição do organismo *O. niloticus* às amostras de águas coletadas nos rios em estudo e também diretamente expostos no rio Atibaia.

Para facilitar a compreensão, os resultados biológicos foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo do estudo avaliou a eficácia do sistema de tratamento empregado pela refinaria, comparando-se os pontos CRJ, TFQ, ETB e LE-E, seguindo a sequência da entrada da água na empresa e os passos de tratamento das água servidas nesta indústria. Já o segundo grupo de estudo avaliou o possível impacto ambiental que a refinaria estudada induz nos recursos hídricos sob a sua influência, comparando-se os pontos CRJ, LE-E, MRA, JRA1, JRA2, para os experimentos *ex situ*, e os pontos JUS e MON, para os experimento *in situ*.

Os dados meteorológicos, obtidos pela Estação Meteorológica do Centro de Análise e Planejamento Ambiental (CEAPLA/IGCE/UNESP) de Rio Claro/SP, estão organizados na tabela 1. Os dados referentes à data da última precipitação e sua quantidade de chuva (em mm), em relação ao dia da coleta, foram apresentados para servir como um parâmetro adicional na avaliação da qualidade da água dos rios estudados. Esses dados podem indicar se houve influência de contaminantes presentes no sedimento dos rios, devido a um possível revolvimento deste sedimento pelo turbilhonamento das águas, ou de carreamento de poluentes das margens para o leito do rio, geralmente promovidos por grandes volumes de chuva. A média pluviométrica e o valor acumulado de precipitação (em mm) dos 15 dias anteriores à data da coleta também foram apresentados, para se ter um panorama da situação hídrica na região, demarcando as estações secas ou chuvosas. Ainda, os valores máximos e mínimos de precipitação (em mm) foram apresentados para demonstrar se houve picos de pluviosidade durante o período.

Na tabela 2 estão apresentados os valores de temperatura no dia da coleta, uma média da temperatura nos 15 dias anteriores à coleta e as médias de temperaturas máximas e mínimas encontradas neste período, todos em graus Célsius (°C).

Para facilitar a compreensão e a comparação, os resultados foram organizados quanto à avaliação da eficácia do tratamento (comparação entre CRJ, TFQ, ETB e LE-E – tabelas 3 e 4) e quanto à avaliação da influência da refinaria sobre o rio Atibaia (comparação entre MRA, JRA1 e JRA2 – tabelas 5 e 6).

Quanto à análise dos HPAs, não foram identificados nenhum deles nas amostras de água, de todas as coletas realizadas. Os valores de detecção foram: cresóis totais ( $< 0,30 \mu\text{g/L}$ ), fenóis ( $< 0,01 \mu\text{g/L}$ ), BTEX (mp-Xileno  $< 2,00 \mu\text{g/L}$ ; tolueno, etilbenzeno, xileno  $< 1,00 \mu\text{g/L}$ ; benzeno  $< 0,001 \mu\text{g/L}$ ), e  $0,01 \mu\text{g/L}$  para os demais. Destes HPAs que constam na resolução do CONAMA 357/2005 (CONAMA, 2005) (para as águas do rio Atibaia) e na resolução do CONAMA 430/2011 (CONAMA, 2011) (para o efluente), o valores máximos permitidos são superiores ao limite de detecção, portanto todas as amostras coletadas estão de acordo com os limites preconizados pela legislação.

Os resultados da análise biológica obtidos pela exposição de espécimes de *Oreochromis niloticus*, *ex situ* e *in situ*, estão apresentados nas tabelas de 7 a 12. Os parâmetros de análise foram os mesmos utilizados por Hoshina et al. (2008), porém o parâmetro de anormalidades nucleares foi simplificado para avaliação de evaginação e invaginação nuclear, broto nuclear e células binucleadas.

As análises de correlação canônica foram feitas comparando-se os dados biológicos com os dados meteorológicos (tabela 13) e comparando-se os dados biológicos com os parâmetros físicos e químicos (tabela 14).

Este trabalho avaliou a influência das atividades desenvolvidas pela maior refinaria de petróleo sobre os rios em seu entorno e a eficácia do tratamento do efluente realizado por esta indústria. Além deste estudo, foi também realizada uma análise dos riscos de contaminação desses ambientes aquáticos, correlacionando os dados biológicos com as informações meteorológicas e com os parâmetros físicos e químicos, para, assim, levantar quais são os períodos ou situações em que o risco possam ser alterados.

Pelos dados meteorológicos apresentados nas tabelas 1 e 2, podemos observar dois padrões climáticos distintos, que se repetiram durante as análises. As estações do ano de primavera e verão foram caracterizadas como períodos chuvosos e quentes, enquanto as estações de outono e inverno foram marcadas por períodos secos e mais frios. Embora fique clara a diferença de pluviosidade entre os períodos quente e frio, a variação térmica foi pequena.

Atualmente, grande parte dos trabalhos de ecogenotoxicidade apenas citam dados meteorológicos e/ou físicos e químicos, mas estes dados pouco ou nada são associados com os resultados biológicos obtidos (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005; LEMOS et al., 2007; SCALON et al., 2010; SOUZA; FONTANETTI, 2012; FUZINATTO et al., 2013). Assim, neste trabalho, o desafio foi melhor explorar a interação desses resultados, promovendo uma discussão integrada dos dados biológicos, das informações climatológicas, físicas e químicas, como apresentado a seguir.



As análises físicas e químicas (tabelas 3, 4, 5 e 6) mostraram haver variações na qualidade das águas dos rios e do efluente, durante os dois anos de avaliação. Pelas tabelas 3 e 4 foi possível observar a qualidade da água do rio Jaguari, captada pela refinaria de petróleo. Já pelas tabelas 5 e 6 foi possível verificar a qualidade do rio Atibaia, antes e após o recebimento do efluente proveniente da refinaria.

De acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA, o rio Jaguari enquadra-se na classe II, enquanto o rio Atibaia enquadra-se na classe IV. Deste modo, a legislação determina valores máximos diferenciados para alguns parâmetros, para cada classe de água doce. Nestas tabelas (3 e 4) também foram apresentadas as características físicas e químicas e químicas do efluente, do início ao término do seu tratamento. No entanto, a resolução 430/2011 do CONAMA é uma legislação específica sobre as recomendações de qualidade que um efluente deve obedecer para ser lançado no ambiente aquático e, portanto, o ponto LE-E é o único que deve corresponder aos valores estipulados por ela.

O potencial hidrogênionico (pH) é uma variável importante, pois esta relacionada com diversos processos biológicos e químicos no ambiente aquático (CHAPMAN, 1996). De acordo com as tabelas das análises físicas e químicas, o parâmetro pH não está alterado em nenhuma das coletas, em relação a ambas as resoluções. Embora a amostra da ETB, coletada na primavera de 2012, apresente valor superior ao limite de 9,0, este não é o efluente final, portanto esta informação pode ser desconsiderada.

A condutividade é um parâmetro físico que avalia e quantifica a concentração de íons, provenientes da presença de sais, cujo valor aumenta quando há o lançamento de poluentes nas águas dos rios (CHAPMAN, 1996). Embora não haja valores previstos na legislação brasileira e não tenha um referencial internacional para esse parâmetro, a CETESB preconiza que valores acima de 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  já sejam indicativos de recursos hídricos impactados. Deste modo, pelas análises realizadas, o rio Jaguari (CRJ) apresentou, para algumas das amostras avaliadas, valores abaixo deste limite, permitindo inferir que este rio é o recurso hídrico menos impactado desta análise. Esse resultado pode indicar que as águas do rio Jaguari não estão comprometidas no local e a montante da captação da refinaria. Em relação ao efluente, foi observado que os valores de condutividade das águas servidas e do efluente da refinaria, analisados desde o início de tratamento (TFQ) até o seu despejo (LE-E), apresentaram valores muito acima do limite pré-estabelecido pela CETESB (tabelas 3-6). Entretanto, de acordo com os valores obtidos na montante do rio Atibaia (MRA), também foi possível inferir que o efluente não esteja alterando este parâmetro nas águas à jusante de seu lançamento (JRA1 e JRA2), pois os valores encontram-se próximos aos da montante do rio.

A temperatura da água pode influenciar na solubilidade das substâncias químicas (inclusive gases, como o O<sub>2</sub> e o CO<sub>2</sub>) e pode afetar o desenvolvimento e o metabolismo de organismos aquáticos (CHAPMAN, 1996). Em relação à temperatura das amostras de água, podemos observar que a temperatura variou de acordo com a respectiva estação do ano. A temperatura do efluente também não extrapolou o limite de 40°C, estabelecido para efluentes, pela resolução 430/2011 do CONAMA.

De acordo com Chapman (1996), a turbidez representa a distribuição de partículas suspensas na coluna d'água e pode variar em decorrência da pluviosidade e do recebimento de enxurradas ricas em partículas de solo. Ainda, de acordo com a CETESB (2014), os esgotos domésticos e industriais também podem provocar o aumento deste parâmetro. Sendo assim, podemos observar valores acima dos permitidos pela resolução (100 NTU) apenas no ponto CRJ, durante o verão e outono de 2012. Se compararmos esta alteração com as informações da tabela 1 (dados pluviométricos), podemos constatar que ambas as coletas foram precedidas de chuvas. A pluviosidade destes períodos mostraram uma correlação direta com a turbidez (verão/2012 - pluviosidade próximo à data da coleta de 25,80 mm/turbidez de 142,0 NTU; outono/2012 - pluviosidade próximo à data da coleta de 11,60 mm/ turbidez de 128,0 NTU), indicando que a pluviosidade pode ter elevado a turbidez das águas do rio Jaguari (tabelas 1 e 3). Porém, após o uso dessas águas pela refinaria, o efluente apresentou valores normais de turbidez, assim como os pontos à jusante de seu lançamento no rio Atibaia (JRA1 e JRA2).

A transparência da água está relacionada com a entrada de luz no corpo hídrico, portanto relacionada com a capacidade energética dos organismos fotossintetizantes presentes na coluna d'água e, conseqüentemente, do oxigênio dissolvido (O.D.) no sistema. No entanto, a transparência só foi avaliada para as águas do rio Atibaia, embora não existam valores previstos para este parâmetro na legislação brasileira. No período relativo ao inverno foram registrados os maiores valores de transparência, o que corrobora com os valores inversamente proporcionais de turbidez destas mesmas amostras. Esses dados reforçam a discussão acima apresentada para turbidez x pluviosidade, onde se inferiu que as chuvas alteram a turbidez das águas. Verificando a interferência da turbidez na transparência da água, podemos ainda inferir que as chuvas podem também alterar o fator transparência, pelo arraste de partículas das margens para o leito dos rios, proporcionando alterações na capacidade fotossintética dos organismos presentes na coluna d'água. Assim, podemos inferir que as chuvas podem ter influenciado na dinâmica da capacidade energética da biota aquática, caracterizando em um importante fator a ser considerado nas avaliações integradas entre os dados físicos, químicos e biológicos de um ecossistema. O período de inverno de 2012 foi o período que apresentou os menores índices pluviométricos, uma menor

turbidez e a maior transparência das águas dos rios, registrados no período de análise deste trabalho.

Outro aspecto importante a ser considerado na interferência da passagem de luz em um ecossistema aquático é a cor apresentada pelas águas deste sistema hídrico. A cor aparente, assim como a cor real ou verdadeira, podem caracterizar se há ou não a presença de partículas orgânicas na água. A cor aparente é avaliada pela alteração da cor verdadeira da água de um recurso hídrico, que não deve ultrapassar o índice de 75 Pt/L (presença de íons de Platina ou Cobalto na água). Esta coloração é dita aparente pois é como o ser humano a vê, mas é, na verdade, em parte resultado da reflexão e dispersão da luz nas partículas em suspensão. A diferenciação entre a cor verdadeira e a cor aparente, que é incrementada pela turbidez, é dada pelo tamanho das partículas, que pode ser generalizado pelo diâmetro partículas, onde partículas com diâmetro superior a 1,2  $\mu\text{m}$  causam turbidez, já as de diâmetro menores, como as partículas coloidais e dissolvidas, causam cor.

De acordo com os resultados obtidos, todas as amostras de águas coletadas no rio Jaguari e Atibaia excederam ao limite de 75 Pt/L, previstos para rios de classe II, III e IV na resolução 357/2005 do CONAMA (tabelas 3 e 4, para o rio Jaguari e 5 e 6, para o rio Atibaia), independentemente do regime pluviométrico registrado, o que pode indicar a presença constante de matéria orgânica ou poluentes na coluna d'água destes rios. Também foi observado que os maiores índices de cor aparente foram registrados nas estações de primavera e verão, coincidindo com os dados de alta turbidez e pluviosidade nestes períodos.

A presença de matéria orgânica, como também de grandes populações de bactérias e de algas, ou de metais pesados podem comprometer a passagem da luz na coluna d'água e atrapalhar os processos fotossintéticos, o que reduz a quantidade de oxigênio dissolvido na água (MALIK et al., 2011). Como não há legislação para o parâmetro de cor aparente para o efluente, foram considerados os valores preconizados pela legislação que regulamenta a qualidade das águas dos rios.

Associados à cor aparente da água, a série de sólidos (sólidos totais e os sedimentáveis – S.T. e S.S.) e a análise da matéria volátil (M.V.) e da matéria fixa residual (M.F.R.) também indicam a presença de matéria orgânica e inorgânica, que podem ser influenciados por variadas substâncias químicas, provenientes da hidrogeologia natural do recurso hídrico ou de atividade antrópica da região. Deste modo, foi possível observar que os rios não apresentaram valores significativos de sólidos presentes, quando comparados com a legislação brasileira. Apenas durante a primavera de 2011 (CRJ) e o outono de 2013 (JRA1 e JRA2) foram verificados valores de S.T. acima do limite de 500 mg/L. Neste caso, podemos inferir duas situações distintas: na

primavera de 2011 (estação quente e chuvosa) pode ter ocorrido o carreamento de matéria orgânica da margem para a coluna d'água do rio Jaguari, enquanto no outono de 2013 (estação seca e fria) o efluente (LE-E) pode ter influenciado na qualidade das águas dos pontos JRA1 e JRA2. Observando-se as tabelas 3 e 4, nesta data de coleta, o LE-E apresentou o maior valor de S.T. e de condutividade que, associado ao menor nível de água no rio devido à baixa pluviosidade (tabela 1), pode ter resultado na maior incidência de S.T. nas amostras de JRA1 e JRA2.

Embora não haja legislação regulamentadora, quanto aos parâmetros S.S., M.V. e M.F.R., estes valores também podem auxiliar na compreensão da quantidade de matéria presente nas amostras de água.

Os níveis de oxigênio dissolvido (O.D.) são importantes para a manutenção da vida aquática dos corpos d'água. Deste modo, a resolução 357/2005 do CONAMA preconiza que rios de classe II, como o Jaguari, devam possuir valores de O.D. maiores que 5,0 mg de O<sub>2</sub>/L, enquanto rios de classe IV, como o Atibaia, devam possuir valores maiores que 2,0 mg de O<sub>2</sub>/L. Na resolução 430/2011 do CONAMA não há regulamentação, quanto à quantidade de O.D. nos efluentes, por isso, neste trabalho, foram marcados apenas os valores menores que 2,0 mg de O<sub>2</sub>/L para o TFQ, ETB e LE-E. De modo geral, os rios apresentaram valores de O.D. satisfatórios para a vida aquática (inclusive para os peixes expostos), assim como o efluente, que também apresentou níveis aceitáveis de O.D.. De acordo com Chapman (1996), valores abaixo de 5,0 mg de O<sub>2</sub>/L podem comprometer algumas espécies aquáticas, mas abaixo de 2,0 mg de O<sub>2</sub>/L pode levar a maioria das espécies de peixes à morte. Essas informações corroboram com os dados das tabelas 3 e 4, cujos valores de O.D. das amostras do TFQ foram menores que 3,0 mg de O<sub>2</sub>/L, induzindo a mortalidade dos espécimes expostos, em todos os experimentos realizados. É importante ressaltar que a toxicidade desta amostra de água já é conhecida, quando se realiza teste com a amostra bruta (HOSHINA et al., 2008). Por este motivo, os experimentos realizados com amostras do TFQ foram feitos com amostras diluídas na proporção de 2:1 (2 partes de água de poço: 1 parte da amostra do TFQ).

Os parâmetros relacionados com a demanda química e bioquímica de oxigênio (D.Q.O. e D.B.O., respectivamente) representam o consumo de oxigênio, por via química ou por via biológica, em uma amostra de água e estão intimamente relacionados ao O.D. na amostra avaliada. Geralmente, é utilizada em análises ambientais, a aferição da D.B.O. de acordo com o padrão referente a 5 dias a 20°C, conhecido como D.B.O.<sub>5,20</sub>. Níveis altos de D.Q.O. representam grandes quantidades de substâncias químicas que reagem com o oxigênio presente na água, enquanto os níveis altos de D.B.O. indicam a presença de muita matéria orgânica, que é decomposta por microrganismos aeróbios que também consomem o oxigênio da água. Na

resolução 357/2005 (CONAMA, 2005) não há regulamentação para D.Q.O., mas a D.B.O. está limitada em 5,0 mg/L (classe II) e em 10 mg/L (classes III e IV). Os resultados das análises físicas e químicas indicam que a D.B.O. dos pontos CRJ, MRA, JRA1 e JRA2 foram elevadas, principalmente durante os períodos de seca e frio. Isso pode estar relacionado com a presença intensa de microrganismos (ainda mais concentrados com menor volume de água no leito dos rios), conforme verificado pelos parâmetros de coliformes totais, bactérias heterotróficas e *Escherichia coli* (representando os coliformes termotolerantes). De acordo com a resolução 357/2005 (CONAMA, 2005), o limite aceitável de coliformes termotolerantes é de 1.000 UFC/100 mL, mas não há regulamentação para os coliformes totais e as bactérias heterotróficas. Embora a legislação brasileira não determine a quantidade limite deste parâmetro, a agência de proteção ambiental dos EUA (EPA, 1989) limita em 500 UFC/mL de bactérias heterotróficas para as águas potáveis, ou seja, para águas destinadas ao consumo humano. Todas as amostras de água avaliadas neste trabalho extrapolaram este limite, demonstrando tanto os riscos que estes recursos hídricos podem estar sofrendo para manter a sua fauna aquática endêmica como a necessidade de tratamentos mais onerosos para que esta água possa ser disponibilizada sem perigo para a população. Ainda podemos inferir que esta grande quantidade de microrganismos pode ser derivada de um provável lançamento de esgoto doméstico na região, associado a fartura de nutrientes disponíveis nos rios.

Em relação aos parâmetros químicos, os únicos que apresentaram valores significativos na análise foram amônia, sulfeto, nitrato, nitrito, cianeto e os íons alumínio e ferro.

Nos corpos d'água, é natural a presença da amônia, pois esta está relacionada com a presença de compostos nitrogenados e excretas de animais. No entanto, a resolução 357/2005 (CONAMA, 2005) define limites de amônia nas diferentes classes hídricas, variando de acordo com o pH. Já a resolução 430/2011 limita a quantidade de amônia permitida nos efluentes em 20,0 mg/L. A partir destas informações, é possível verificar que nenhuma das amostras de rio apresentou níveis elevados deste composto. Em relação ao efluente, pode-se ver que o tratamento realizado pela refinaria foi eficiente na remoção da amônia, pois todas as amostras provenientes do TFQ apresentaram valores acima dos 20,0 mg/L, enquanto nenhuma amostra oriunda do LE-E infringiu o determinado pela legislação.

Em relação ao nitrato e ao nitrito, a legislação brasileira determina valores limites de 10 mg/L e 1,0 mg/L, respectivamente, pela resolução 357/2005. Não há qualquer limite estabelecido para os efluentes pela resolução responsável. Para este parâmetro, não foram registrados para o rio Jaguari e Atibaia nenhum valor contrário ao exigido pela legislação de água de rios.

Embora os sulfetos estejam presentes nos efluentes de refinarias (EL-NAAS et al., 2014), não foram evidenciados valores acima do determinado pela legislação (1,0 mg/L). Por outro lado, todas as amostras coletadas no CRJ apresentaram valores superiores ao limite (2,0 µg/L para rios de classe II), enquanto que nenhuma amostra do rio Atibaia (MRA, JRA1 e JRA2) superou o limite para rios da classe IV (300 µg/L). De acordo com Wright et al. (2012), o H<sub>2</sub>S é um sulfeto produzido por atividade de bactérias termotolerantes, durante a decomposição da matéria orgânica e é um dos responsáveis pelo mau odor do esgoto doméstico. Ainda, indústrias de coberturas metálicas, estações de tratamento de efluentes metálicos e a drenagem ácida de metais pesados também são fontes de sulfetos no ambiente (VAN HILLE et al., 2005). Devido à quantidade de sulfetos encontrada no rio Jaguari, acredita-se que exista alguma dessas atividades à montante do local CRJ.

Quanto ao cianeto, a legislação determina limites de 0,005 mg/L para rios de classes I e II, 0,022 mg/L para rios de classes III e IV e 0,2 mg/L para os efluentes industriais. Sendo assim, observa-se que o CRJ apresentou valores acima do limite em cinco das oito coletas realizadas. De acordo com Lu (2013), os cianetos podem ser provenientes de efluentes de indústrias de aço e metais, de plásticos, de fertilizantes e de carreamentos de áreas agrícolas. A presença de indústrias que liberam metais nos seus efluentes, presentes na região, poderia explicar as altas concentrações de sulfetos e cianetos no rio Jaguari.

As amostras coletadas na área do TFQ também apresentaram altos valores de cianetos, ao contrário do observado para as amostras do LE-E. Novamente, como visto para as concentrações de amônia, o tratamento da refinaria foi eficaz na retirada de certos contaminantes de sua composição, como é o caso do cianeto. O sistema de tratamento existente na refinaria é baseado em três etapas sucessivas: separação de água e óleo, lagoas aeradas com microrganismos e lagoa de estabilização.

Em relação a análise de íons, apenas o alumínio e o ferro foram encontrados em níveis superiores aos determinados pela legislação (Al: classes I e II = 0,1 mg/L; classes III e IV = 0,2 mg/L; Fe: classes I e II = 0,3 mg/L; classes III e IV = 5,0 mg/L; efluente = 15,0 mg/L), mas estes somente foram encontrados nas amostras de águas coletadas no rio Jaguari (CRJ – tabelas 3 e 4). O Al é muito utilizado em diversos tipos de indústrias que usam este metal como matéria-prima para o processamento de seus produtos e também no tratamento e purificação de água (ACHARY; PANDA, 2009; LIMA et al., 2011). Quando encontrado em altas concentrações, o Al pode induzir alterações no genoma de diversos organismos (LIMA et al., 2011). Assim como o Al, o Fe também pode ser lançado no ambiente por indústrias metalúrgicas e pode induzir danos

ao DNA, porém sua ação se dá de forma indireta, pela indução de estresse oxidativo (LIMA et al., 2011).

Os peixes são excelentes bioindicadores para o estudo do potencial genotóxico e mutagênico dos contaminantes presentes em corpos d'água que recebem efluentes, pois eles podem metabolizar, concentrar e acumular os poluentes (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005; SCALON et al., 2010). A espécie *Oreochromis niloticus* tem sido utilizado como bioindicador em diversos estudos de monitoramento ambiental, inclusive para avaliar efluentes de refinarias de petróleo (ÇAVAŞ; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005; SOUZA; FONTANETTI, 2006; LEMOS et al., 2007; HOSHINA et al., 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2010; OMAR et al., 2012; SOUZA; FONTANETTI, 2012; FUZINATTO et al., 2013).

Neste estudo, a espécie *O. niloticus* demonstrou ser sensível para a realização de biomonitoramento da qualidade de águas de recursos hídricos, tanto pela exposição *ex situ* quanto pela exposição *in situ*. Os resultados obtidos foram agrupados e comparados entre si para avaliar a eficácia do tratamento de efluente realizado pela refinaria (tabelas 7, 8 e 9), e para avaliar a influência que esse tipo de indústria do petróleo tem sobre os recursos hídricos a ela relacionados (tabelas 10, 11 e 12). Durante a primavera de 2011, foi observado um efeito tóxico nas águas da ETB, pois todos os peixes expostos a esta amostra morreram. Apesar do desconhecimento do real agente indutor da toxicidade, pode-se notar que o mesmo foi neutralizado, após a passagem do efluente pela lagoa de estabilização.

Os resultados de citotoxicidade, mensurados pela frequência de eritrócitos em processo de morte celular, indicaram que houve, no verão de 2013, uma ação citotóxica derivada da exposição dos peixes às águas do efluente da refinaria (LE-E), quando comparados com a água da captação (CRJ) (tabela 7). Apesar dos efeitos observados, foi possível também observar que os pontos a jusante do despejo do efluente não induziram a mesma ação citotóxica às apresentadas pelos LE-E, pois o JRA2 apresentou frequências significativamente menores às obtidas no LE-E. Por este fato, pode-se inferir que, apesar de o efluente conter substâncias potencialmente citotóxicas para os peixes, o efluente da refinaria não parece ter comprometido essas águas, como visto nos testes realizados com amostras coletadas após a sua mistura com a água do rio (JRA1 e JRA2).

Pelo ensaio *in situ*, não foi possível estabelecer qualquer padrão de citotoxicidade para os pontos JUS e MON, pois não foram observadas diferenças estatísticas entre esses pontos analisados em relação aos resultados observados no teste CN. No entanto, na exposição realizada na primavera de 2011, houve uma redução no potencial citotóxico das águas do rio Atibaia, ao

longo de seu curso (tabela 10). Essa redução demonstra que o rio ainda possui um eficiente poder de autodepuração.

Em relação às frequências de anormalidades nucleares apresentadas na tabela 8, é possível inferir que o sistema de tratamento adotado pela empresa foi passando por um processo de aprimoramento, durante esse período da realização dos experimentos, o que permitiu uma boa remoção de agentes genotóxicos de seu efluente. Este fato pode ser deduzido pelos resultados das análises realizadas com as amostras de água coletadas na primavera de 2011 e no verão de 2012, que induziram frequências de AN significativamente altas, quando comparadas com o CN. Isso demonstra que, naquele período, o sistema de tratamento não era eficiente na remoção de tais substâncias genotóxicas. No entanto, nas estações seguintes, este efeito não foi mais observado, mostrando uma isenção de compostos com atividades genotóxicas no efluente.

Os resultados apresentados na tabela 8 também permitem avaliar que houve uma efetividade relativa no uso da lagoa de estabilização para a descontaminação do efluente da empresa, quanto a redução do potencial genotóxico dessas amostras estudadas. A exposição dos peixes em amostras de águas coletadas no rio Jaguari e nos diversos pontos de coleta de dentro da refinaria, inclusive na LE-E, mostram que houve uma redução do valores do potencial genotóxicos do LE-E, em relação aos resultados do ETB, o que comprova a efetividade da descontaminação do efluente promovida pelos processos biológicos que ocorrem na lagoa de estabilização.

Quanto ao potencial genotóxico das águas dos rios no entorno da refinaria, vemos que as águas do rio Atibaia, a montante (MRA), geralmente apresentam potencial genotóxico semelhante ao observado no rio Jaguari (CRJ – tabela 11). Essa informação é importante para saber qual é realmente a influência do efluente da refinaria sobre a qualidade das águas do rio Atibaia. Como a qualidade real observada para as águas dos rios Jaguari e Atibaia é considerada semelhante, a mistura das águas desses dois rios não deveria alterar a qualidade dos pontos a jusante do lançamento do efluente da refinaria, isso, se houvesse a total retirada dos compostos tóxicos derivados do processo de refino. Contudo, foi observado que isso não aconteceu para as água do ponto JRA1, provavelmente devido a um efeito aditivo ou sinérgico das substâncias existentes na água do Atibaia com aquelas presentes no efluente da refinaria. Porém, de modo geral, as amostras de águas coletadas mais a jusante do local do lançamento (JRA2) não induziram danos genotóxicos significativos nos peixes, quando expostos *ex situ*, e comparados com o CN e com o MRA. Isso demonstra que pode haver uma influência mínima da refinaria, em relação a presença de substâncias genotóxicas, sobre a qualidade do rio Atibaia. Já o experimento *in situ*, parece confirmar um maior genotoxicidade para as águas do ponto JUS. Isso foi sugerido porque



nas estações de verão, outono e inverno de 2012 (tabela 11) foram observados valores maiores para a JUS do que para a MON.

O efeito aditivo e o efeito sinérgico podem acontecer quando substâncias químicas somam seus efeitos (aditivo) ou se interagem (sinérgico) e induzem um efeito que não seria provocado se estas estivessem isoladas. Esse efeito também foi sugerido por Ribeiro et al. (2014), quando foram analisados os efeitos genotóxicos das águas do rio São Francisco, e por Manzano et al. (2014), ao analisar o impacto dos efluentes industriais e domésticos lançados no ribeirão Tatu, ambos localizados no Brasil. Beyer et al. (2014), em seu trabalho de revisão bibliográfica, destacam que os contaminantes podem interagir com outras substâncias tóxicas e dar origem a incontáveis combinações dos modos de ação aditivos, sinérgicos ou antagonistas.

Quanto às frequências de células micronucleadas, não foram observados resultados significativos nem em relação ao tratamento realizado pela refinaria de petróleo (tabela 9) nem no ambiente no entorno da refinaria, comprovado tanto para os testes *in situ* como *ex situ*.

Por se tratar de efluentes gerados por uma refinaria de petróleo, é comum associar os danos genotóxicos e mutagênicos à presença de HPAs (PELAEZ et al., 2013; GUPTA et al., 2014; MIR et al., 2014). No entanto, neste trabalho não foram detectadas concentrações expressivas da série avaliada de HPAs nas amostras coletadas e, deste modo, é impossível relacionar os efeitos biológicos encontrados com esta classe de contaminantes.

Depois de analisados, apresentados e discutidos os dados meteorológicos, físicos, químicos e biológicos, foi possível realizar o teste de correlação multivariada canônica (CCA), para verificar a correlação entre os dados biológicos com as variáveis ambientais, a fim de tentar determinar quais os fatores que poderiam influenciar mais efetivamente a biota. Primeiramente foram correlacionados os dados biológicos e os dados meteorológicos (tabela 13). De acordo com os resultados da correlação, os *endpoints* de citotoxicidade e mutagenicidade são altamente influenciados pela pluviosidade, enquanto a genotoxicidade não parece ter nenhuma ligação com este fator. Contudo, esses dados servem para demonstrar que a pluviosidade, pode influenciar diretamente a biota local, ou seja, quanto maiores os índices pluviométricos, maiores as chances de carreamento de substâncias da margem para o leito do rio ou ainda maiores as chances da recontaminação da coluna d'água pelo compostos adsorvidos aos sedimentos, e, conseqüentemente, maiores podem ser os impactos à biota local. Em relação à temperatura não foram observadas muitas correlações, portanto, perante ao exposto na tabela 13, este fator climático não parece ter sido o principal parâmetro a ser considerado no estudo.

Quando foi aplicado o teste de CCA entre os dados biológicos e os parâmetros físicos e químicos, parece ser possível estabelecer alguma correlação mais efetiva (tabela 14). Fatores

como o pH, a temperatura da água, a concentração de nitrato e a concentração dos íons Al, Fe, P e Ba parecem não estabelecer uma correlação direta com os nossos dados biológicos. De acordo com esta análise, apesar de os íons Al e Fe terem excedido os limites estabelecidos pela legislação, parece que estes não atuaram como exclusivos indutores dos efeitos danosos aos organismos vivos.

Por outro lado, outros fatores demonstraram bastante correlação com os dados biológicos e podem ajudar a elucidar seus mecanismos de ação sobre o organismo-teste. A condutividade parece ter uma correlação inversa, principalmente, com a citotoxicidade, onde baixos valores deste parâmetro poderiam corresponder a altos valores de células em processo de morte. Já a turbidez, a cor aparente, os S.S., a M.V. e a M.F.R. parecem ter uma correlação positiva com os vários *endpoints* biológicos. Esta informação é interessante, pois todos estes fatores ambientais estão ligados à quantidade de matéria orgânica ou carga poluidora que, quando presentes em grande quantidade nos recursos hídricos, podem induzir danos à biota aquática.

Pela continuação da tabela 14, podemos observar que o nitrito foi um parâmetro que apresentou variação nas correlações, sendo negativa para a citotoxicidade e positiva para a genotoxicidade. Isso pode ser interpretado como se as altas concentrações de nitrito não induzissem a morte celular, mas fossem capazes de induzir os danos genotóxicos. Já o cianeto atuaria de maneira oposta, sendo que as altas concentrações induziriam a morte celular, o que é realmente esperado, enquanto as concentrações menores só seriam capazes de induzir danos genotóxicos, dados esses inéditos para esse químico. Tanto o nitrito quanto o cianeto, de acordo com o teste de correlação realizado, teriam relação de dose-resposta.

Quanto aos sulfetos, parece que este parâmetro é diretamente relacionado apenas com os danos citotóxicos, ou seja, quanto maior sua concentração maiores seriam as frequências de células em processo de morte, se caracterizando em um perigoso agente tóxico. Evans (1967) detalhou exatamente como o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) interfere no organismo, a partir de experimentos realizados com gatos. De acordo com o autor, os sulfetos presentes na corrente sanguínea são capazes de interagir, rapidamente, com a hemoglobina oxigenada, retirando seu oxigênio e liberando o íon sulfeto. A partir disso, é possível inferir que a falta do oxigênio celular leva as células ou até mesmo o organismo inteiro, rapidamente, à morte.

Por fim, os íons Na, K e Sr apresentaram correlações positivas com os danos biológicos. Estes íons são essenciais para a manutenção da homeostase dos seres vivos e estão relacionados com diversas funções biológicas, porém grandes concentrações podem desestabilizar os organismos e se caracterizar em sérios prejuízos orgânicos, com alta chance de letalidade.

Por toda discussão apresentada, entendemos que há o comprometimento da qualidade das águas do rio Jaguari, pelo menos no seguimento estudado, caracterizado como rio de classe II, pois suas respostas toxicológicas foram muito próximas ao rio Atibaia (classe IV).

#### 4. Conclusões

Este trabalho, realizado durante 2 anos, por meio do bioindicador *Oreochromis niloticus* associado a fatores ambientais, apresentou dados completos do monitoramento ambiental dos rios presentes no entorno de uma refinaria de petróleo e avaliou a eficácia do tratamento empregado em sua água de uso. Os dados meteorológicos permitiram caracterizar os regimes de chuvas e a temperatura do ambiente durante as diferentes estações do ano, bem como a dinâmica ambiental estabelecida pelas modificações proporcionadas pela sazonalidade. As análises físicas e químicas também permitiram conhecer melhor as características das amostras de águas e do efluente e ainda possibilitaram averiguar se as condições de qualidade correspondem à legislação vigente.

O uso de análises multifatoriais nem sempre é bem-vindo nos estudos de ecotoxicologia, por não demonstrarem resultados que vão de acordo com o senso comum dos pesquisadores da área ambiental. No entanto, a correlação multivariada canônica utilizada neste trabalho sugere que esta ferramenta poderá ser útil nestes tipos de estudos, pois ajudará a definir quais serão os parâmetros que deverão receber mais atenção na avaliação.

As águas dos rios e os efluentes de indústrias do refino do petróleo são misturas complexas, e a composição e a quantidade de compostos podem variar durante as estações climáticas, assim como seus efeitos sobre os organismos vivos.

Embora não tenham sido observados comprometimentos ambientais e o sistema de tratamento da refinaria tenha sido eficiente durante o período avaliado, é sempre indicado que haja um monitoramento constante da área que recebe influência antrópica, para assegurar o menor risco aos ecossistemas aquáticos e à saúde humana.

A qualidade das águas do rio Jaguari (classe II, de acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA) apresentou-se comprometida e deve receber maior atenção dos órgãos competentes, pois, muitas vezes, apresentam respostas ecotoxicológicas muito semelhantes às apresentadas pelo rio Atibaia, rio este classificado como de classe IV. Sendo assim, sugerimos que não seja feita uma reclassificação do rio Jaguari, mas que este seja alvo de estratégias de recuperação e despoluição.

## 5. Referências Bibliográficas

ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Aluminium-induced DNA damage and adaptive response to genotoxic stress in plant cells are mediated through reactive oxygen intermediates. **Mutagenesis**, v. 25, n. 2, p. 1–9, 2009.

BEYER, J.; PETERSEN, K.; SONG, Y.; et al. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: A discussion paper. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 81–91, 2014.

BOLOGNESI, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 205–213, 2010.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring - Second Edition**. 2nd ed. London: E&FN Spon - Chapman & Hall, 1996.

ÇAVAŞ, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 3, p. 264–271, 2005.

CONAMA. **Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasília, DF, 2005.

CONAMA. **Resolução nº 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasília, DF, 2011.

DE FLORA, S.; VIGANÒ, L.; D'AGOSTINI, F.; et al. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. **Mutation Research**, v. 319, n. 3, p. 167–177, 1993.

EL-NAAS, M. H.; ALHAIJA, M. A.; AL-ZUHAIR, S. Evaluation of a three-step process for the treatment of petroleum refinery wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 56–62, 2014.

EPA, U. S. **Drinking water; National Primary Drinking Water Regulations; Filtration, Disinfection; Turbidity, Giardia lamblia, Viruses, Legionella, and Heterotrophic Bacteria; Final Rule**. 1989.

EVANS, C. L. The toxicity of hydrogen sulphide and other sulphides. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 231–248, 1967.

FUZINATTO, C. F.; FLOHR, L.; MELEGARI, S. P.; MATIAS, W. G. Induction of micronucleus of *Oreochromis niloticus* exposed to waters from the Cubatão do Sul River, southern Brazil. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 98, p. 103–109, 2013.

GUPTA, A. K.; AHMAD, I.; AHMAD, M. Genotoxicity of refinery waste assessed by some DNA damage tests. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, *in press*, 2014. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.03.032.

HOSHINA, M. M.; DE ANGELIS, D. DE F.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 656, n. 1-2, p. 44–48, 2008.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the Genotoxicity of Petroleum Refinery Effluents Using the Comet Assay in *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 5, n. 1, p. 75–79, 2010.

LEMOS, C. T. DE; RÖDEL, P. M.; TERRA, N. R.; OLIVEIRA, N. C. D. DE; ERDTMANN, B. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 66, n. 3, p. 391–401, 2007.

LIMA, P.; VASCONCELLOS, M.; MONTENEGRO, R.; et al. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 10, p. 1435–1444, 2011.

LU, J. L. Cyanide and Mercury Concentrations in Surface Water in a Large Mining Area in the Philippines. **Global Journal on Advances Pure and Applied Sciences**, v. 1, p. 450-465, 2013.

MALIK, N.; DATE, A.; LEBLANC, J.; AKBARZADEH, A.; MEEHAN, B. Monitoring and maintaining the water clarity of salinity gradient solar ponds. **Solar energy**, v. 85, p. 2987–2996, 2011.

MANZANO, B. C.; ROBERTO, M. M.; HOSHINA, M. M.; MENEGÁRIO, A. A.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of São Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells. **Environmental Science and Pollution Research**, *disponível online*, 2014. DOI: 10.1007/s11356-014-3476-5.

MIR, M. I.; KHAN, S.; BHAT, S. A.; RESHI, A. A.; SHAH, F. A.; BALKI, M. H.; MANZOOR, R. Scenario of genotoxicity in fishes and its impact on fish industry. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, n. 6, p. 65-76. 2014.

OMAR, W. A.; ZAGHLOUL, K. H.; ABDEL-KHALEK, A. A.; ABO-HEGAB, S. Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. **Mutation research**, v. 746, n. 1, p. 7–14, 2012.

PELAEZ, A. I.; LORES, I.; SOTRES, A.; MENDEZ-GARCIA, C.; FERNANDEZ-VELARDE, C.; SANTOS, J. A.; GALLEGU, J. L. R.; SANCHEZ, J. Design and field-scale implementation of an "on site" bioremediation treatment in PAH-polluted soil. **Environmental Pollution**, v. 181, p. 190-199, 2013.

RIBEIRO, D. L.; BARCELOS, G. R. M.; D'ARCE, L. P. G. Genotoxic Effects of Water from São Francisco River, Brazil, in *Astyanax paranae*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 93, n. 3, p. 274–279, 2014.

SCALON, M. C. S.; RECHENMACHER, C.; SIEBEL, A. M.; et al. Evaluation of Sinos River water genotoxicity using the comet assay in fish. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1217–1222, 2010.

SEVCIKOVA, M.; MODRA, H.; SLANINOVA, A.; SVOBODOVA, Z. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 11, p. 537–546, 2011.

SOUZA, T.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 605, n. 1-2, p. 87–93, 2006.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. DNA damage of erythrocytes of fish *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae), after acute exposure to river water receiving effluent from an oil refinery. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, 2012.

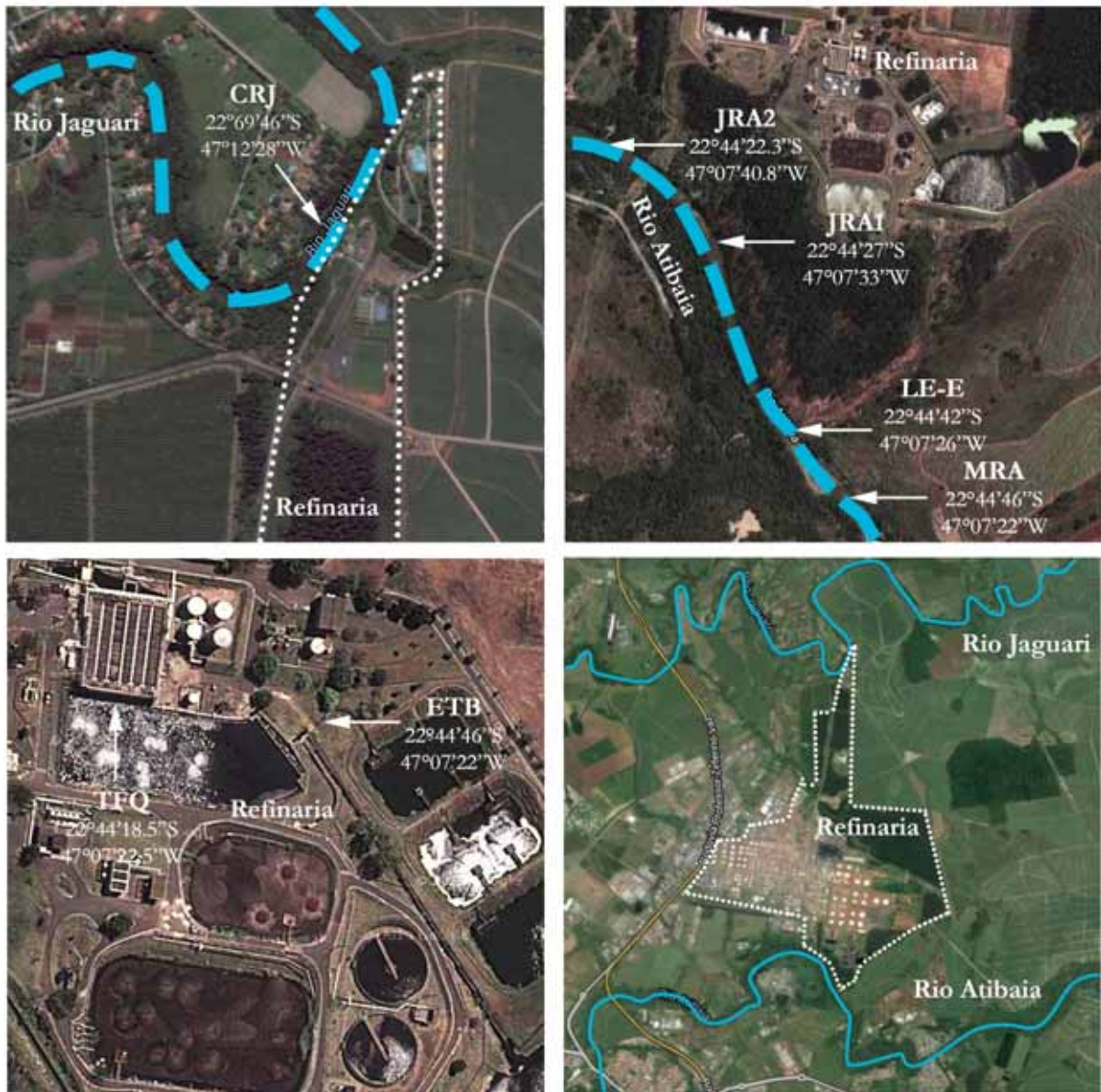
USEPA, Toxic Releases Inventory (TRI) - Releases: Industry Report, 2013. Acesso em 04/10/2014. Disponível em <http://www.epa.gov/triexplorer/industry.htm>.

VAN HILLE, R. P.; A PETERSON, K.; LEWIS, A. E. Copper sulphide precipitation in a fluidised bed reactor. **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 10, p. 2571–2578, 2005.

VIALLE, C.; SABLAYROLLES, C.; LOVERA, M.; et al. Monitoring of water quality from roof runoff: Interpretation using multivariate analysis. **Water Research**, v. 45, n. 12, p. 3765–3775, 2011.

WRIGHT, J. A.; YANG, H.; WALKER, K.; et al. The H<sub>2</sub>S test versus standard indicator bacteria tests for faecal contamination of water: systematic review and meta-analysis. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 17, n. 1, p. 94–105, 2012.

**Figura 1** - Imagens de satélite referentes aos locais de coleta de águas. As setas indicam o ponto referenciado na imagem e suas respectivas coordenadas geográficas.



**Fonte:** elaborado pelo autor.

CRJ: área de captação de água da refinaria no rio Jaguari; MRA: área a 200 metros a montante do rio Atibaia; LE-E: saída da lagoa de estabilização (efluente tratado da refinaria); JRA1: área do rio Atibaia a 300 metros a jusante do local de despejo do efluente; JRA2: área do rio Atibaia a 800 metros a jusante do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico e entrada do tratamento biológico; ETB: saída da estação de tratamento biológico e entrada da lagoa de estabilização.

**Tabela 1** – Dados pluviométricos referentes às datas de coleta das amostras de água (*ex situ*) ou à exposição dos peixes no rio Atibaia (*in situ*).

Estação	Dia da coleta	Mês	Ano	Última precipitação	Quantidade (mm)	Média (15 dias - mm)	Acumulado (15 dias - mm)	Máxima precipitação (mm)	Mínima precipitação (mm)
Primavera	05	Dezembro	2011	02/12/2011	1,60	5,69	85,30	45,20	0,00
Verão	30	Janeiro	2012	28/01/2012	25,80	16,45	246,80	67,80	0,00
Outono	17	Abril	2012	16/04/2012	11,60	1,85	27,80	11,60	0,00
Inverno	18	Julho	2012	17/07/2012	7,40	1,39	20,80	7,40	0,00
Primavera	23	Outubro	2012	22/10/2012	0,20	10,45	156,80	43,90	0,00
Verão	01	Fevereiro	2013	31/01/2013	22,00	5,12	76,80	25,90	0,00
Outono	16	Junho	2013	14/06/2013	0,50	1,17	17,50	10,90	0,00

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados fornecidos pelo CEAPLA/IGCE/UNESP.

**Tabela 2** – Registros de temperatura referentes às datas de coleta das amostras de água (*ex situ*) ou à exposição dos peixes no rio Atibaia (*in situ*).

Estação	Dia da coleta	Mês	Ano	Última precipitação	Temperatura na coleta (°C)		Temperatura Média (15 dias - °C)		Média Média (°C)	
					Temperatura na coleta (°C)	Temperatura Média (15 dias - °C)	Média Mínima (°C)	Média Máxima (°C)		
Primavera	05	Dezembro	2011	02/12/2011	23,61	22,74±1,27	16,77±1,82	30,12±1,63		
Verão	30	Janeiro	2012	28/01/2012	21,60	21,40±1,24	17,70±1,80	27,97±2,70		
Outono	17	Abril	2012	16/04/2012	21,31	23,37±0,96	18,06±1,30	30,62±1,56		
Inverno	18	Julho	2012	17/07/2012	14,00	15,84±2,16	9,97±3,35	23,43±3,23		
Primavera	23	Outubro	2012	22/10/2012	22,91	22,55±2,35	16,76±1,91	29,91±4,06		
Verão	01	Fevereiro	2013	31/01/2013	23,76	23,39±0,87	18,83±1,90	29,88±1,37		
Outono	16	Junho	2013	14/06/2013	18,43	17,44±1,12	12,42±2,27	25,19±2,28		

Fonte: elaborado pelo autor.

Dados fornecidos pelos CEAPLA/IGCE/UNESP.



**Tabela 3 –** Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2011 ao inverno de 2012. Monitoramento da eficácia do tratamento da refinaria.

Parâmetros	Pontos de Coleta											
	CRJ			TFQ			ETB			LE-E		
	Prim.	Ver.	Out.	Inv.	Prim.	Ver.	Out.	Inv.	Prim.	Ver.	Out.	Inv.
pH	7,47	7,34	7,52	8,75	7,93	7,56	7,56	7,82	8,31	8,38	8,26	8,40
Cond. (µS/cm)	130,5*	70,4	91,4	98,3	1745,0*	2260,0*	1878,0*	2340,0*	2270,0*	2340,0*	2090,0*	2380,0*
Temp. (°C)	23,0	22,0	25,0	17,0	31,0	31,0	34,0	25,0	29,0	29,0	30,0	24,0
Turbidez (NTU)	80,0	142,0*	128,0*	14,0	59,0	78,0	130,0+	62,0	47,0	27,0	17,0	15,0
Transp. (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cor Apar. (Pt/L)	1490,0*	1142,0*	1871,0*	108,0*	505,0+	233,0+	218,0+	162,0+	1069,0+	373,0+	201,0+	147,0+
S.T. (mg/L)	516,0*	400,0	356,0	246,0	1806,0*	1494,0*	1602,0*	2124,0*	1600,0*	822,0*	1170,0*	1836,0*
S.S. (mL/L)	0,70	0,50	0,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,70	0,10	0,10	0,10
M.V. (g/L)	0,158	0,158	0,152	0,194	0,330	0,330	0,252	0,758	0,142	0,142	0,082	0,300
M.F.R. (g/L)	0,358	0,240	0,204	0,052	0,860	0,106	1,284	0,984	0,792	1,050	1,180	1,124
O.D. (mg/L)	7,00	4,38*	8,84	7,13	1,80*	1,54*	0,69*	0,21*	5,71	4,21	9,80	7,38
D.Q.O. (mg/L)	45,76	18,00	42,56	10,00	768,00	1200,0	912,00	870,00	115,20	220,00	121,60	98,00
D.B.O. (mg/L)	23,80*	4,60	13,40*	9,30*	680,00	444,00	764,00	680,00	26,50	15,90	13,40	18,00
<i>E. coli</i> (UFC x 10 <sup>3</sup> /100 mL)	61,8*	50,9*	321,5*	37,1*	4,1	6,2	3,1	7,6	58,4	44,1	104,7	266,3
Coliformes totais (UFC/100 mL)	41,1	141,4	1986,3	46,1	2,2	39,7	135,2	5,0	77,0	41,1	1986,3	548,8
Bact. Heter. (UFC x 10 <sup>4</sup> /100 mL)	5,2*	5,2*	85,5*	20,0*	1820,0	830,0	7600,0	90,0	63,5	39,0	6,5	20,5
Cloreto (mg/L)	3,95	4,91	3,95	5,93	444,76	481,82	407,70	494,18	358,28	444,76	321,20	432,41
Amônia (mg/L)	0,24	0,27	0,43	0,42	30,65*	33,60*	52,85*	31,50*	19,98	0,16	0,71	0,49
Nitrito (mg/L)	0,022	0,013	0,078	0,042	0,000	0,024	0,000	0,000	0,608	1,572	0,017	0,006
Nitrato (mg/L)	0,059	0,010	0,000	1,342	11,174	10,548	13,572	10,319	1,834	14,120	9,574	21,544
Sulfeto (µg/L)	84,0*	53,0*	28,0*	50,0*	275,0	168,0	275,0	50,0	31,0	24,0	7,0	9,0
Óleos e graxas (mg/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cianeto (mg/L)	0,014*	0,007*	0,007*	0,004	1,375*	1,350*	5,950*	8,900*	0,004	0,005	0,010	0,004
Arsênio (µg/L)	< 2,00	7,20	< 2,00	< 2,00	4,80	11,10	7,50	5,10	3,80	13,00	8,30	4,60
Selênio (µg/L)	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	9,10	8,30	20,60	6,80	17,30	23,10	15,20	13,80
Mercurio (µg/L)	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Na (mg/L)	12,200	10,600	10,500	9,050	387,000	476,000	443,000	345,000	503,000	500,000	631,000	431,000
K (mg/L)	4,660	3,950	4,240	3,420	10,900	13,700	12,100	12,200	12,800	12,700	18,300	11,000
Si (mg/L)	5,310	5,100	5,890	6,490	9,490	12,300	11,000	11,700	11,100	11,800	14,800	10,900
Mg (mg/L)	2,320	2,080	1,990	1,900	8,500	11,900	9,030	12,700	9,890	9,880	12,200	5,930
Ca (mg/L)	6,140	5,880	4,970	6,290	28,400	43,000	35,700	32,600	28,900	28,900	10,400	25,400

Sr (mg/L)	0,066	0,061	0,059	0,063	2,110	2,720	2,760	1,350	2,210	2,210	2,210	3,090	1,320	2,450	2,490	2,350	1,700
Al (mg/L)	<b>0,180*</b>	<b>0,270*</b>	<b>0,360*</b>	0,013	0,087	0,440	0,096	0,094	0,072	0,230	0,230	0,100	0,053	0,021	0,066	0,090	0,039
P (mg/L)	0,200	0,250	0,160	0,035	0,850	0,500	1,010	1,050	0,670	0,690	0,690	0,740	0,360	0,500	1,010	0,940	0,380
Fe (mg/L)	<b>0,760*</b>	<b>0,530*</b>	<b>0,790*</b>	0,130	0,083	0,700	0,290	0,092	0,150	0,470	0,150	0,160	0,012	0,065	0,074	0,084	0,075
Ba (mg/L)	0,057	0,052	0,047	0,044	0,410	0,730	0,590	0,380	0,460	0,610	0,610	0,380	0,330	0,660	0,340	0,450	0,380

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Cond.: condutividade; Temp.: temperatura; Transp.: transparência; Cor Apar.: cor aparente; S.T.: sólidos totais; S.S.: sólidos sedimentáveis; M.V.: matéria volátil; M.F.R.: matéria fixa residual; O.D.: oxigênio dissolvido; D.Q.O.: demanda química de oxigênio; D.B.O.: demanda bioquímica de oxigênio; Bact. Heter.: bactérias heterotróficas.

CR]: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização. - dado não obtido para a amostra.

\* valor acima do previsto pela resolução 357/2005 (CONAMA), para os rios, e resolução 430/2011 (CONAMA), para o efluente. O limite de condutividade (100  $\mu$ S/cm) está de acordo com a recomendação da CETESB e o limite para bactérias heterotróficas foi baseado em recomendação da EPA (500 UFC/mL).

+ valor sem referência na legislação para efluente, portanto utilizaram-se os mesmos valores da legislação para rios.

**Tabela 4** – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2012 ao outono de 2013. Monitoramento da eficácia do tratamento da refinaria.

Parâmetros	Pontos de Coleta											
	CRJ			TFQ			ETB			LE-E		
	Prim.	Ver.	Out.	Prim.	Ver.	Out.	Prim.	Ver.	Out.	Prim.	Ver.	Out.
pH	6,87	7,40	6,99	7,58	7,24	7,30	9,13*	7,59	7,19	8,74	8,39	7,55
Cond. (µS/cm)	<b>118,3*</b>	85,2	<b>121,2*</b>	<b>4510,0*</b>	<b>1737,0*</b>	<b>3220,0*</b>	<b>3280,0*</b>	<b>1840,0*</b>	<b>2960,0*</b>	<b>2940,0*</b>	<b>1714,0*</b>	<b>3010,0*</b>
Temp. (°C)	24,0	23,0	24,0	36,0	33,0	32,0	32,0	31,0	32,0	30,0	28,0	30,0
Turbidez (NTU)	18,0	20,0	12,0	78,0	<b>130,0*</b>	95,0	47,0	22,0	15,0	27,0	13,7	6,0
Transp. (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cor Apar. (Pt/L)	<b>1142,0*</b>	<b>186,0*</b>	<b>110,0*</b>	<b>1137,0*</b>	<b>678,0*</b>	<b>1540,0*</b>	<b>233,0*</b>	<b>113,0*</b>	<b>137,0*</b>	<b>252,0*</b>	<b>203,0*</b>	<b>101,0*</b>
S.T. (mg/L)	8,0	240,0	432,0	<b>2732,0*</b>	<b>2276,0*</b>	<b>2228,0*</b>	<b>1542,0*</b>	<b>1782,0*</b>	<b>1580,0*</b>	<b>1512,0*</b>	<b>1606,0*</b>	<b>2164,0*</b>
S.S. (mL/L)	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10
M.V. (g/L)	0,004	1,768	0,312	0,720	0,726	0,584	0,372	0,404	0,576	0,292	0,374	0,752
M.F.R. (g/L)	0,043	0,094	0,120	1,499	1,550	1,644	1,237	1,378	1,004	1,396	1,232	1,412
O.D. (mg/L)	7,83	<b>4,85*</b>	5,79	3,03	2,89	<b>1,23*</b>	7,47	5,10	5,38	7,87	6,23	5,60
D.Q.O. (mg/L)	7,36	3,36	12,00	880,00	960,00	800,00	88,00	128,00	40,00	88,00	128,00	120,00
D.B.O. (mg/L)	<b>6,00*</b>	2,20	<b>9,00*</b>	624,00	740,00	720,00	39,00	32,00	14,00	38,70	31,60	19,00
<i>E. coli</i> (UFC x 10 <sup>3</sup> /100 mL)	<b>8,9*</b>	<b>28,3*</b>	<b>27,2*</b>	40,9	458,3	618,5	12,7	1,0	3,1	25,3	6,0	4,8
Coliformes totais (UFC/100 mL)	19,4	30,8	18,7	119,8	17,9	172,0	1,3	3,7	9,3	72,7	27,6	8,7
Bact. Heter. (UFC x 10 <sup>4</sup> /100 mL)	1,6	<b>6,7*</b>	<b>40,4*</b>	380,0	860,0	51,0	20,5	13,2	42,5	22,0	12,6	32,7
Cloretos (mg/L)	8,47	6,59	10,35	1165,27	494,36	812,16	776,85	529,67	812,16	682,68	531,24	776,85
Amônia (mg/L)	0,44	0,05	0,90	<b>61,00*</b>	<b>65,40*</b>	<b>68,75*</b>	0,29	0,04	0,49	0,30	0,07	0,33
Nitrito (mg/L)	0,245	0,172	0,140	0,000	0,000	0,000	0,077	0,000	0,000	0,101	0,171	0,063
Nitrato (mg/L)	0,180	1,760	1,860	6,230	0,050	12,550	19,890	7,690	20,870	14,030	4,720	15,060
Sulfeto (µg/L)	<b>53,0*</b>	<b>42,0*</b>	<b>27,0*</b>	168,0	73,0	239,0	24,0	17,0	9,0	18,0	14,0	12,0
Óleos e graxas (mg/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,70	2,00	1,20
Cianeto (mg/L)	<b>0,007*</b>	0,001	<b>0,007*</b>	<b>1,350*</b>	<b>4,300*</b>	<b>5,000*</b>	0,005	0,008	0,021	0,006	0,007	0,003
Arsênio (µg/L)	3,80	**	**	9,90	**	**	12,10	**	**	11,70	**	**
Selênio (µg/L)	< 5,00	**	**	16,90	**	**	27,30	**	**	25,50	**	**
Mercurio (µg/L)	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Na (mg/L)	5,340	11,060	10,400	523,000	543,000	521,000	512,000	597,000	561,000	467,000	517,000	493,000
K (mg/L)	3,330	3,470	3,500	13,900	18,000	18,800	14,000	15,800	18,000	13,200	15,500	17,000
Si (mg/L)	6,980	7,360	7,410	14,100	15,500	16,300	14,600	16,400	17,000	13,700	15,300	16,000

Mg (mg/L)	2,020	2,490	2,190	9,280	11,200	10,800	9,070	10,100	10,200	8,580	10,200	9,630
Ca (mg/L)	6,530	7,840	8,190	41,400	45,200	44,200	39,400	39,700	40,200	37,700	40,700	38,400
Sr (mg/L)	0,070	0,080	0,070	2,630	2,700	2,650	2,360	2,330	2,400	2,140	2,200	2,140
Al (mg/L)	<b>0,940*</b>	<b>0,830*</b>	<b>1,530*</b>	0,300	0,290	0,310	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120	0,020
P (mg/L)	0,140	0,480	0,190	1,280	1,500	1,530	0,640	0,600	0,710	0,780	1,400	0,970
Fe (mg/L)	<b>0,770*</b>	<b>0,680*</b>	<b>1,470*</b>	0,410	0,440	0,460	0,130	0,130	0,140	0,200	0,210	0,240
Ba (mg/L)	0,060	0,060	0,060	0,500	0,530	0,560	0,610	0,530	0,700	0,450	0,470	0,510

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Cond.: condutividade; Temp.: temperatura; Transp.: transparência; Cor Apar.: cor aparente; S.T.: sólidos totais; S.S.: sólidos sedimentáveis; M.V.: matéria volátil; M.F.R.: matéria fixa residual; O.D.: oxigênio dissolvido; D.Q.O.: demanda química de oxigênio; D.B.O.: demanda bioquímica de oxigênio; Bact. Heter.: bactérias heterotróficas.

CRJ: captação no rio Jaguari; TFC: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

- dado não obtido para a amostra.

\* valor acima do previsto pela resolução 357/2005 (CONAMA), para os rios, e resolução 430/2011 (CONAMA), para o efluente. O limite de condutividade (100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) está de acordo com a recomendação da CETESB e o limite para bactérias heterotróficas foi baseado em recomendação da EPA (500 UFC./mL).

+ valor sem referência na legislação para efluente, portanto utilizaram-se os mesmos valores da legislação para rios.

**Tabela 5** – Análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras coletadas no período da primavera de 2011 ao inverno de 2012. Monitoramento da influência da refinaria sobre o rio Atibaia.

Parâmetros	Pontos de Coleta											
	MRA			JRA1			JRA2					
	Prim.	Ver.	Out.	Inv.	Prim.	Ver.	Out.	Inv.	Prim.	Ver.	Out.	Inv.
pH	7,54	7,10	7,92	8,61	7,49	7,47	7,64	8,51	7,32	7,52	7,62	8,37
Cond. (µS/cm)	<b>124,7*</b>	<b>148,9*</b>	<b>250,9*</b>	<b>234,9*</b>	<b>122,7*</b>	<b>182,7*</b>	<b>262,7*</b>	<b>247,9*</b>	<b>107,4*</b>	<b>183,2*</b>	<b>266,4*</b>	<b>238,0*</b>
Temp. (°C)	23,0	22,0	25,0	17,0	23,0	22,0	25,0	17,0	23,0	22,0	25,0	17,0
Turbidez (NTU)	80,0	46,0	32,0	18,0	80,0	80,0	56,0	17,0	80,0	70,0	37,0	12,0
Transp. (cm)	10,0	15,0	15,0	50,0	10,0	15,0	15,0	50,0	10,0	15,0	15,0	50,0
Cor Apar. (Pt/L)	<b>1163,0*</b>	<b>490,0*</b>	<b>350,0*</b>	<b>125,0*</b>	<b>1132,0*</b>	<b>1137,0*</b>	<b>1766,0*</b>	<b>1194,0*</b>	<b>344,0*</b>	<b>252,0*</b>	<b>155,0*</b>	<b>136,0*</b>
S.T. (mg/L)	340,0	262,0	114,0	440,0	316,0	430,0	198,0	204,0	296,0	450,0	199,0	148,0
S.S. (mL/L)	0,40	0,40	0,10	0,10	0,30	0,10	0,90	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
M.V. (g/L)	0,210	0,210	0,072	0,060	0,614	0,614	0,162	0,462	0,324	0,324	0,184	0,186
M.F.R. (g/L)	0,198	0,060	0,032	0,140	0,038	0,088	0,186	0,102	0,086	0,106	0,158	0,088
O.D. (mg/L)	6,77	<b>4,49*</b>	9,01	7,46	6,73	4,79	9,11	7,50	7,14	4,65	9,59	7,73
D.Q.O. (mg/L)	26,00	41,60	10,00	12,00	17,68	43,68	6,00	15,00	20,80	39,52	10,00	13,00
D.B.O. (mg/L)	<b>16,30*</b>	6,60	<b>17,60*</b>	9,90	6,80	8,20	<b>19,00*</b>	<b>12,50*</b>	7,70	8,20	<b>14,50*</b>	<b>10,60*</b>
<i>E. coli</i> (UFC x 10 <sup>3</sup> /100 mL)	<b>43,3*</b>	<b>44,7*</b>	<b>324,1*</b>	<b>201,4*</b>	<b>57,1*</b>	<b>50,2*</b>	<b>221,2*</b>	<b>218,4*</b>	<b>8,6*</b>	<b>10,1*</b>	<b>18,4*</b>	<b>205,0*</b>
Coliformes totais (UFC/100 mL)	9,3,3	44,1	1732,9	261,3	309,0	717,0	69900,0	3255,0	5,8	155,3	1119,9	435,2
Bact. Heter. (UFC x 10 <sup>4</sup> /100 mL)	<b>27,0*</b>	<b>26,5*</b>	<b>144,5*</b>	<b>24,0*</b>	<b>11,5*</b>	2,9	<b>136,0*</b>	<b>15,5*</b>	<b>130,5*</b>	<b>9,3*</b>	<b>173,5*</b>	<b>10,5*</b>
Cloretos (mg/L)	6,91	8,89	10,87	8,89	7,90	10,87	18,77	12,84	6,91	10,87	10,87	11,86
Amônia (mg/L)	0,37	0,82	1,30	0,81	0,36	0,71	0,39	0,54	0,37	0,74	0,86	1,42
Nitrato (mg/L)	0,057	0,102	0,188	0,183	0,065	0,126	0,260	0,183	0,059	0,119	0,226	0,183
Nitrato (mg/L)	0,633	0,933	0,669	1,968	0,549	1,108	1,676	1,818	0,716	1,108	1,513	3,557
Sulfeto (µg/L)	64,0	17,0	5,0	27,0	72,0	39,0	3,0	33,0	79,0	40,0	4,0	48,0
Óleos e graxas (mg/L)	2,30	1,80	4,60	1,40	-	-	-	-	3,00	2,10	3,00	0,90
Cianeto (mg/L)	0,008	0,009	0,002	0,003	0,011	0,010	0,001	0,004	0,010	0,012	0,001	0,001
Arsênio (µg/L)	2,70	19,40	3,40	< 2,00	5,60	12,90	< 2,00	< 2,00	6,30	5,10	< 2,00	< 2,00
Selênio (µg/L)	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00	< 5,00
Mercurio (µg/L)	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Na (mg/L)	52,900	52,500	30,400	26,600	41,700	58,900	57,500	30,300	58,800	57,600	33,200	40,800
K (mg/L)	6,310	6,250	5,340	4,670	5,630	6,370	5,510	4,630	6,190	7,800	5,270	4,620

Si (mg/L)	5,170	5,190	6,480	5,980	4,820	5,190	6,450	5,980	5,050	5,440	6,450	6,390
Mg (mg/L)	2,120	2,100	2,690	1,950	2,590	2,240	2,390	2,070	2,180	2,630	2,650	2,120
Ca (mg/L)	6,920	6,950	8,590	7,750	8,820	7,150	7,900	8,200	7,250	9,080	8,052	8,200
Sr (mg/L)	0,067	0,068	0,100	0,066	0,160	0,087	0,110	0,075	0,091	0,110	0,110	0,078
Al (mg/L)	<b>0,150*</b>	<b>0,200*</b>	<b>0,130*</b>	0,079	0,073	<b>0,150*</b>	<b>0,170*</b>	0,067	<b>0,170*</b>	<b>0,270*</b>	0,049	0,048
P (mg/L)	0,120	0,120	0,096	0,029	0,130	0,120	0,130	0,044	0,130	0,150	0,050	0,100
Fe (mg/L)	0,830	0,850	0,430	0,330	0,380	0,820	0,890	0,250	0,800	0,850	0,180	0,310
Ba (mg/L)	0,069	0,065	0,080	0,057	0,086	0,067	0,075	0,058	0,074	0,081	0,083	0,055

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Cond.: condutividade; Temp.: temperatura; Transp.: transparência; Cor Apar.: cor aparente; S.T.: sólidos totais; S.S.: sólidos sedimentáveis; M.V.: matéria volátil; M.F.R.: matéria fixa residual; O.D.: oxigênio dissolvido; D.Q.O.: demanda química de oxigênio; D.B.O.: demanda bioquímica de oxigênio; Bact. Heter.: bactérias heterotróficas.

MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

- dado não obtido para a amostra.

\* valor acima do previsto pela resolução 357/2005 (CONAMA), para os rios, e resolução 430/2011 (CONAMA), para o efluente. O limite de condutividade (100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) está de acordo com a recomendação da CETESB e o limite para bactérias heterotróficas foi baseado em recomendação da EPA (500 UFC/mL).

+ valor sem referência na legislação para efluente, portanto utilizaram-se os mesmos valores da legislação para rios.



Na (mg/L)	36,500	40,400	42,600	39,400	46,500	47,400	41,000	45,400	46,800
K (mg/L)	4,710	4,720	4,910	4,590	4,580	4,700	4,660	4,790	4,650
Si (mg/L)	6,730	7,450	7,870	6,780	7,240	7,790	6,740	7,080	7,750
Mg (mg/L)	2,340	2,580	2,740	2,400	2,700	2,690	2,350	2,570	2,760
Ca (mg/L)	9,560	9,900	10,100	9,610	9,840	9,760	9,340	9,430	9,840
Sr (mg/L)	0,090	0,090	0,090	0,100	0,110	0,110	0,100	0,100	0,110
Al (mg/L)	<b>0,440*</b>	<b>0,430*</b>	<b>0,480*</b>	<b>0,380*</b>	<b>0,370*</b>	<b>0,390*</b>	<b>0,410*</b>	<b>0,380*</b>	<b>0,420*</b>
P (mg/L)	0,220	0,230	0,310	0,150	0,150	0,170	0,110	0,110	0,260
Fe (mg/L)	0,740	0,750	0,850	0,580	0,610	0,660	0,680	0,690	0,750
Ba (mg/L)	0,080	0,081	0,091	0,079	0,082	0,090	0,076	0,077	0,085

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Cond.: condutividade; Temp.: temperatura; Transp.: transparência; Cor Apar.: cor aparente; S.T.: sólidos totais; S.S.: sólidos sedimentáveis; M.V.: matéria volátil; M.F.R.: matéria fixa residual; O.D.: oxigênio dissolvido; D.Q.O.: demanda química de oxigênio; D.B.O.: demanda bioquímica de oxigênio; Bact. Heter.: bactérias heterotróficas.

MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

- dado não obtido para a amostra.

\* valor acima do previsto pela resolução 357/2005 (CONAMA), para os rios, e resolução 430/2011 (CONAMA), para o efluente. O limite de condutividade (100  $\mu$ S/cm) está de acordo com a recomendação da CETESB e o limite para bactérias heterotróficas foi baseado em recomendação da EPA (500 UFC/mL).

+ valor sem referência na legislação para efluente, portanto utilizaram-se os mesmos valores da legislação para rios.



**Tabela 7** – Frequências de células portadoras de morte celular e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria.

Estação	Ano	Amostras											
		CN		CRJ		TFQ		ETB		LE-E			
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	1,32±1,33	5	1,67±2,55	5	***	0	***	0	1,92±1,83	5		
Verão	2012	1,39±1,26	5	3,57±2,89	5	***	0	***	0	2,10±1,56	4		
Outono	2012	0,26±0,37	5	0,41±0,63	5	***	0	***	0	0,45±0,54	5		
Inverno	2012	0,03±0,07	5	0,01±0,05	5	***	0	***	0	0,12±0,24	5		
Primavera	2012	1,05±1,33	5	2,49±3,77	5	***	0	***	0	0,63±1,11	5		
Verão	2013	0,09±0,27	5	0,01±0,04	5	***	0	***	0	<b>0,15±0,17CRJ</b>	5		
Outono	2013	0,06±0,11	5	0,10±0,14	5	***	0	***	0	0,05±0,18	5		

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, ETB, LE-E significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 8** - Frequências de células portadoras de anormalidades nucleares e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria.

Estação	Ano	Amostras											
		CN		CRJ		TFQ		ETB		LE-E			
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	0,54±0,59	5	0,90±0,47	5	***	0	***	0	1,83±1,36 <sup>CRJ</sup>	5		
Verão	2012	1,09±0,74	5	2,37±1,77	5	***	0	***	0	1,69±0,74	4	2,71±1,65*	4
Outono	2012	1,33±0,88	5	1,35±0,34	5	***	0	***	0	1,33±0,92	5	1,29±0,97	5
Inverno	2012	3,76±3,12	5	0,51±0,58	5	***	0	***	0	1,91±1,85 <sup>CRJ</sup>	5	0,36±0,38 <sup>ETB</sup>	5
Primavera	2012	2,59±2,43	5	1,70±0,86	5	***	0	***	0	1,60±1,06	5	1,25±1,84	5
Verão	2013	2,14±1,54	5	3,60±2,32	5	***	0	***	0	4,59±3,71	5	3,79±2,46	5
Outono	2013	2,38±2,39	5	1,80±1,37	5	***	0	***	0	1,50±2,01	5	1,22±0,94	5

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

<sup>CRJ, ETB, LE-E</sup> significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 9** – Frequências de células micronucleadas e comparação entre os pontos relacionados com o tratamento de efluente realizado pela refinaria.

Estação	Ano	Amostras											
		CN		CRJ		TFQ		ETB		LE-E			
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	0,03±0,07	5	0,01±0,05	5	***	0	***	0	0,01±0,05	5		
Verão	2012	0,03±0,07	5	0,19±0,30	5	***	0	***	0	0,19±0,44	4		
Outono	2012	0,01±0,04	5	0,00±0,00	5	***	0	***	0	0,06±0,16	4		
Inverno	2012	0,01±0,05	5	0,00±0,00	5	***	0	***	0	0,02±0,06	5		
Primavera	2012	0,02±0,06	5	0,01±0,05	5	***	0	***	0	0,00±0,00	5		
Verão	2013	0,01±0,05	5	0,01±0,05	5	***	0	***	0	0,03±0,07	5		
Outono	2013	0,03±0,07	5	0,01±0,05	5	***	0	***	0	0,00±0,00	5		
				0,00±0,00	5	***	0	***	0	0,00±0,00	5		

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoo de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 10** - Frequências de células portadoras de morte celular e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno.

Estação	Ano	Amostras										<i>In situ</i>					
		CN		CRJ		LE-E		MRA		JRA1		JRA2		MON		JUS	
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	1,32±1,33	5	1,67±2,55	5	1,92±1,83	5	3,50±4,37	5	1,64±1,40	5	1,04±1,02	5	6,17±6,79	5	1,21±1,09 <sup>M</sup>	5
Verão	2012	1,39±1,26	5	3,57±2,89	5	2,10±1,56	4	1,74±1,57	5	2,38±1,95	4	2,53±1,92	5	1,28±1,22	5	1,79±2,07	5
Outono	2012	0,26±0,37	5	0,41±0,63	5	0,45±0,54	5	0,85±1,50	5	0,49±0,46	5	0,85±1,79	5	0,70±0,95	5	0,56±0,62	5
Inverno	2012	0,03±0,07	5	0,01±0,05	5	0,12±0,24	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,04±0,08	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5
Primavera	2012	1,05±1,33	5	2,49±3,77	5	0,63±1,11	5	0,61±0,67	5	1,88±3,58	5	1,10±1,41	5	1,57±2,60	5	1,96±3,14	5
Verão	2013	0,09±0,27	5	0,01±0,04	5	0,15±0,17 <sup>C</sup>	5	0,05±0,12	5	0,17±0,25	5	0,01±0,05 <sup>E</sup>	5	0,08±0,15	5	0,10±0,15	4
Outono	2013	0,06±0,11	5	0,10±0,14	5	0,05±0,18	5	0,24±0,34	5	0,03±0,08	5	0,02±0,06	5	0,12±0,22	5	0,12±0,21	5

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; MON: montante do rio Atibaia (*in situ*); JUS: jusante do rio Atibaia (*in situ*).

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, LE-E, MRA, JRA1, JRA2 significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

MON significativo –  $p < 0,05$  (Mann-Whitney), comparando-se JUS com MON.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 11** – Frequências de células portadoras de anormalidades nucleares e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno.

Estação	Ano	Amostras										<i>In situ</i>					
		CN		CRJ		LE-E		MRA		JRA1		JRA2		MON		JUS	
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	0,54±0,59	5	0,90±0,47	5	<b>1,83±1,36*</b> CRJ	5	<b>0,28±0,41<sup>C</sup></b> RJ, LE-E	5	<b>0,66±0,51<sup>L</sup></b> E-E	5	<b>0,46±0,39<sup>L</sup></b> E-E	5	1,02±1,31	5	0,78±0,57	5
Verão	2012	1,09±0,74	5	2,37±1,77	5	<b>2,71±1,65*</b>	4	2,33±1,38	5	<b>2,52±1,39*</b>	4	1,59±2,20	5	2,12±1,32	5	<b>2,99±1,56*</b>	5
Outono	2012	1,33±0,88	5	1,35±0,34	5	1,29±0,97	5	2,01±1,82	5	<b>3,07±1,81*</b>	5	2,40±2,49	5	1,42±0,97	5	<b>2,04±1,06<sup>M</sup></b> ON	5
Inverno	2012	3,76±3,12	5	0,51±0,58	5	0,36±0,38	5	0,75±0,49	5	<b>3,63±4,14<sup>C</sup></b> RJ, LE-E	5	<b>0,57±0,59<sup>J</sup></b> RAI	5	1,12±0,81	5	1,86±1,06	5
Primavera	2012	2,59±2,43	5	1,70±0,86	5	1,25±1,84	5	1,70±1,13	5	2,14±1,38	5	1,65±0,89	5	1,38±0,85	5	<b>2,49±1,54<sup>M</sup></b> ON	5
Verão	2013	2,14±1,54	5	3,60±2,32	5	3,79±2,46	5	2,35±2,18	5	2,14±1,13	5	2,90±1,93	5	3,39±2,82	5	2,33±2,33	4
Outono	2013	2,38±2,39	5	1,80±1,37	5	1,22±0,94	5	1,38±1,42	5	2,40±2,58	5	2,22±2,15	5	1,42±1,07	5	2,90±3,25	5

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; MON: montante do rio Atibaia (*in situ*); JUS: jusante do rio Atibaia (*in situ*).

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, LE-E, MRA, JRA1, JRA2, MON significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

MON significativo –  $p < 0,05$  (Mann-Whitney), comparando-se JUS com MON.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 12** – Frequências de células micronucleadas e comparação entre os pontos relacionados com a influência da refinaria sobre os rios em seu entorno.

Estação	Ano	Amostras										<i>In situ</i>					
		CN		CRJ		LE-E		MRA		JRA1		JRA2		MON		JUS	
		Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n	Média±DP (%)	n
Primavera	2011	0,03±0,07	5	0,01±0,05	5	0,01±0,05	5	0,00±0,00	5	0,01±0,05	5	0,00±0,00	5	0,05±0,11	5	0,04±0,08	5
Verão	2012	0,03±0,07	5	0,19±0,30	5	0,19±0,44	4	0,09±0,31	5	0,39±0,79	4	0,23±0,64	5	0,18±0,46	5	0,16±0,31	5
Outono	2012	0,01±0,04	5	0,00±0,00	5	0,06±0,16	5	0,08±0,21	5	0,10±0,23	5	0,07±0,13	5	0,06±0,20	5	0,01±0,05	5
Inverno	2012	0,01±0,05	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,01±0,05	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5
Primavera	2012	0,02±0,06	5	0,01±0,05	5	0,01±0,05	5	0,05±0,11	5	0,00±0,00	5	0,06±0,14	5	0,00±0,00	5	0,10±0,19	5
Verão	2013	0,01±0,05	5	0,01±0,05	5	0,01±0,05	5	0,02±0,07	5	0,02±0,07	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,01±0,05	4
Outono	2013	0,03±0,07	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,00±0,00	5	0,01±0,04	5	0,03±0,07	5	0,00±0,00	5	0,01±0,04	5

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; MON: montante do rio Atibaia (*in situ*); JUS: jusante do rio Atibaia (*in situ*).

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, LE-E, MRA, JRA1, JRA2, MON significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

MON significativo –  $p < 0,05$  (Mann-Whitney), comparando-se JUS com MON.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 13** – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados meteorológicos.

<i>Endpoint</i>	<i>Amostra</i>	Valor de r	
		Temperatura Média	Pluviosidade Acumulada
Citotoxicidade	CRJ	<b>0,511</b>	<b>0,717</b>
	ETB	0,309	<b>0,849</b>
	LE-E	0,403	<b>0,698</b>
	MRA	0,441	0,395
	JRA1	<b>0,516</b>	<b>0,905</b>
	JRA2	0,452	<b>0,888</b>
	MON	0,433	0,265
	JUS	<b>0,530</b>	<b>0,865</b>
Genotoxicidade	CRJ	0,376	0,279
	ETB	0,357	0,014
	LE-E	0,341	0,196
	MRA	-0,068	-0,080
	JRA1	-0,287	-0,047
	JRA2	-0,155	-0,360
	MON	0,315	0,183
	JUS	0,110	0,486
Mutagenicidade	CRJ	0,176	<b>0,846</b>
	ETB	0,349	<b>0,760</b>
	LE-E	0,276	<b>0,752</b>
	MRA	0,166	0,313
	JRA1	0,223	<b>0,740</b>
	JRA2	0,223	<b>0,794</b>
	MON	0,303	<b>0,704</b>
	JUS	0,365	<b>0,977</b>
Correlações Positivas	<b>3</b>	<b>13</b>	
Correlações Negativas	<b>0</b>	<b>0</b>	

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Os valores realçados determinam uma correlação forte. Correlação negativa –  $r \leq -0,5$ .  
Correlação positiva –  $r \geq 0,5$ .

**Tabela 14 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos.**

Amostra	Valor de r																
	pH	Cond.	Temp.	Tur.	C.Apat.	S.T.	S.S.	M.V.	M.F.R.	O.D.	D.Q.O.	D.B.O.	E. coli	Colif.	Bact.	Clor.	Amô.
CRJ	-0,290	0,171	0,389	0,288	<b>0,620</b>	-0,180	0,391	-0,418	-0,170	0,270	0,240	0,243	-0,113	-0,174	-0,412	-0,285	-0,084
LE-E	0,331	-0,298	0,124	<b>0,745</b>	<b>0,820</b>	<b>-0,545</b>	<b>0,945</b>	-0,127	-0,390	0,024	0,351	0,182	-0,186	-0,179	<b>0,641</b>	-0,477	<b>0,572</b>
MRA	-0,459	<b>-0,617</b>	0,258	<b>0,906</b>	<b>0,923</b>	0,120	<b>0,887</b>	<b>0,509</b>	<b>0,610</b>	0,043	<b>0,685</b>	<b>0,533</b>	-0,240	-0,045	-0,101	<b>-0,598</b>	-0,270
JRA1	-0,211	<b>-0,611</b>	0,315	<b>0,852</b>	0,280	-0,068	-0,101	0,366	0,412	-0,029	<b>0,733</b>	0,007	<b>-0,515</b>	-0,157	0,117	<b>-0,561</b>	-0,272
JRA2	-0,143	-0,431	0,277	<b>0,727</b>	0,350	0,041	0,000	0,115	0,402	-0,006	<b>0,875</b>	0,127	<b>-0,526</b>	0,066	0,190	<b>-0,553</b>	-0,348
MON	-0,263	<b>-0,605</b>	0,256	<b>0,934</b>	<b>0,945</b>	0,113	<b>0,735</b>	0,381	<b>0,517</b>	0,159	0,481	<b>0,570</b>	-0,312	-0,110	-0,137	<b>-0,569</b>	-0,384
JUS	-0,387	-0,454	0,388	<b>0,858</b>	<b>0,679</b>	-0,005	0,000	-0,003	0,242	0,071	<b>0,632</b>	-0,004	<b>-0,581</b>	-0,078	0,265	-0,456	-0,474
Cor. +	0	0	0	6	5	0	3	1	2	0	4	2	0	0	1	0	1
Cor. -	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0
CRJ	-0,485	-0,420	0,279	-0,065	-0,276	-0,185	-0,283	<b>0,760</b>	-0,485	<b>-0,666</b>	-0,487	<b>-0,684</b>	-0,230	-0,168	-0,251	0,223	-0,389
LE-E	0,195	-0,317	0,006	0,080	0,083	-0,346	0,201	0,071	0,281	-0,315	<b>0,691</b>	<b>0,641</b>	<b>-0,625</b>	-0,326	-0,263	0,142	-0,075
MRA	-0,282	0,282	-0,171	<b>-0,567</b>	-0,487	<b>-0,606</b>	-0,295	-0,295	<b>-0,500</b>	-0,436	-0,285	<b>-0,634</b>	0,320	-0,035	-0,137	<b>0,545</b>	<b>0,636</b>
JRA1	<b>0,637</b>	0,385	0,085	-0,276	-0,251	<b>-0,648</b>	0,042	-0,257	-0,264	0,155	0,155	-0,264	0,442	0,281	0,093	0,053	0,439
JRA2	-0,174	0,449	-0,149	<b>0,906</b>	<b>0,923</b>	0,120	<b>0,887</b>	<b>0,509</b>	<b>0,610</b>	0,043	<b>0,685</b>	<b>0,533</b>	-0,240	-0,045	-0,101	<b>-0,598</b>	-0,270
MON	-0,481	-0,305	0,072	-0,240	-0,138	-0,435	-0,127	-0,270	-0,210	<b>-0,575</b>	-0,068	<b>-0,541</b>	-0,273	-0,200	-0,348	0,200	-0,157
JUS	-0,201	0,195	0,409	0,345	0,325	-0,028	<b>0,748</b>	0,404	0,458	-0,218	<b>0,875</b>	0,103	-0,021	0,135	0,026	-0,453	-0,037
Cor. +	1	0	0	1	1	0	2	2	1	0	3	2	0	0	0	1	1
Cor. -	0	0	0	1	0	2	0	0	1	2	0	3	1	0	0	1	0
CRJ	-0,051	<b>-0,634</b>	0,017	<b>0,644</b>	0,236	0,240	0,386	-0,111	0,250	<b>-0,509</b>	-0,003	-0,264	-0,091	-0,141	-0,307	-0,303	-0,218
LE-E	<b>0,560</b>	-0,169	0,130	0,379	0,173	<b>-0,720</b>	<b>0,758</b>	-0,176	-0,410	-0,208	0,489	-0,010	0,052	0,129	0,367	-0,330	-0,162
MRA	-0,282	0,055	-0,050	-0,276	-0,251	<b>-0,648</b>	0,042	-0,257	-0,345	-0,113	0,155	-0,264	0,442	0,281	0,093	0,053	0,439
JRA1	-0,149	-0,223	0,098	0,423	0,379	0,236	0,038	0,448	0,450	-0,277	<b>0,841</b>	0,034	-0,162	0,097	-0,152	-0,335	0,023
JRA2	-0,052	-0,079	0,177	0,415	0,061	0,159	0,000	0,148	0,270	-0,196	<b>0,806</b>	0,171	-0,328	0,119	-0,086	-0,256	-0,107
MON	<b>-0,625</b>	-0,412	0,140	0,345	0,325	-0,028	<b>0,748</b>	0,404	0,458	-0,218	<b>0,875</b>	0,103	-0,021	0,135	0,026	-0,453	-0,037
JUS	-0,276	-0,361	0,239	<b>0,718</b>	0,495	0,131	0,000	0,073	0,340	-0,222	<b>0,787</b>	-0,096	<b>-0,503</b>	-0,164	-0,089	-0,354	-0,389
Cor. +	1	0	0	2	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
Cor. -	1	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Os valores realçados determinam uma correlação forte. Correlação negativa  $-r \leq -0,5$ . Correlação positiva  $-r \geq 0,5$ .

Cond.: condutividade; Temp.: temperatura; Tur.: turbidez; C.Apa.: cor aparente; S.T.: sólidos totais; S.S.: sólidos sedimentáveis; M.V.: matéria volátil; M.F.R.: matéria fixa residual; O.D.: oxigênio dissolvido; D.Q.O.: demanda química de oxigênio; D.B.O.: demanda bioquímica do oxigênio; Colif.: coliformes totais; Bact.: bactérias heterotróficas; Clor.: cloretos; Amô.: amônia.



**Continuação da Tabela 14 - Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos.**

Amostra	Valor de r													
	Nitri.	Nitra.	Sulf.	Cian.	Na	K	Si	Mg	Ca	Sr	Al	P	Fe	Ba
CRJ	0,064	-0,375	<b>0,609</b>	0,331	-0,456	0,201	-0,441	0,013	-0,293	-0,055	-0,069	-0,081	0,026	0,424
LE-E	-0,091	-0,165	<b>0,726</b>	<b>0,894</b>	<b>0,655</b>	-0,063	<b>-0,915</b>	<b>0,768</b>	-0,112	<b>0,509</b>	-0,187	-0,152	<b>-0,522</b>	0,163
MRA	<b>-0,549</b>	-0,265	<b>0,550</b>	<b>0,833</b>	<b>0,709</b>	<b>0,886</b>	<b>-0,751</b>	-0,343	<b>-0,727</b>	-0,465	-0,395	-0,253	0,448	-0,183
JRA1	-0,364	-0,123	0,405	<b>0,551</b>	0,289	<b>0,600</b>	<b>-0,643</b>	-0,113	-0,429	0,212	-0,217	0,125	0,281	0,051
JRA2	-0,007	-0,379	-0,363	0,382	0,407	<b>0,756</b>	<b>-0,715</b>	0,060	-0,251	-0,001	-0,112	-0,135	0,265	0,197
MON	<b>-0,598</b>	-0,281	<b>0,602</b>	<b>0,886</b>	<b>0,591</b>	<b>0,690</b>	<b>-0,638</b>	-0,323	<b>-0,588</b>	-0,409	-0,282	-0,169	0,420	-0,109
JUS	0,074	-0,450	-0,104	0,340	0,306	0,460	<b>-0,600</b>	-0,142	-0,202	-0,095	0,106	-0,138	0,341	0,137
Cor. +	0	0	4	4	3	4	0	1	0	1	0	0	0	0
Cor. -	2	0	0	0	0	0	6	0	2	0	0	0	1	0
CRJ	<b>0,525</b>	0,140	-0,302	<b>-0,577</b>	0,129	-0,302	0,360	<b>0,559</b>	0,482	<b>0,632</b>	0,431	<b>0,854</b>	0,190	0,431
LE-E	-0,257	0,396	-0,097	0,054	0,308	<b>0,559</b>	0,034	<b>0,555</b>	<b>0,730</b>	<b>0,660</b>	0,319	<b>0,721</b>	0,057	0,074
MRA	<b>0,726</b>	<b>0,782</b>	-0,350	<b>-0,678</b>	0,001	-0,092	0,418	0,129	0,400	0,274	0,215	0,137	-0,161	-0,125
JRA1	<b>0,586</b>	0,447	<b>-0,504</b>	-0,448	0,016	0,245	-0,112	-0,084	-0,079	0,133	-0,185	-0,255	-0,216	-0,293
JRA2	<b>-0,549</b>	-0,265	<b>0,550</b>	<b>0,833</b>	<b>0,709</b>	<b>0,886</b>	<b>-0,751</b>	-0,343	<b>-0,727</b>	-0,465	-0,395	-0,253	0,448	-0,183
MON	0,211	0,087	0,015	<b>-0,509</b>	0,160	-0,171	0,365	0,274	0,372	0,240	0,421	0,330	0,228	0,160
JUS	-0,187	-0,233	0,004	0,174	<b>0,525</b>	<b>0,785</b>	<b>-0,670</b>	-0,256	<b>-0,674</b>	-0,332	-0,410	-0,340	0,276	-0,266
Cor. +	3	1	1	1	0	3	0	2	1	2	0	2	0	0
Cor. -	1	0	1	3	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0
CRJ	-0,226	-0,211	0,193	0,335	0,128	0,143	<b>-0,604</b>	-0,002	-0,239	-0,273	-0,254	0,218	-0,196	0,002
LE-E	0,192	-0,246	0,141	0,465	<b>0,673</b>	0,112	<b>-0,540</b>	<b>0,778</b>	0,096	0,320	0,115	0,244	-0,378	<b>-0,541</b>
MRA	<b>0,586</b>	0,447	<b>-0,504</b>	-0,448	0,016	0,245	-0,112	-0,084	-0,079	0,133	-0,185	-0,255	-0,216	-0,293
JRA1	-0,221	0,140	0,346	0,221	<b>0,715</b>	<b>0,810</b>	-0,463	-0,304	<b>-0,760</b>	-0,257	-0,286	-0,055	<b>0,604</b>	-0,300
JRA2	-0,369	-0,343	-0,262	0,033	0,262	<b>0,725</b>	-0,383	0,385	0,100	0,236	0,020	0,011	0,213	0,329
MON	-0,187	-0,233	0,004	0,174	<b>0,525</b>	<b>0,785</b>	<b>-0,670</b>	-0,256	<b>-0,674</b>	-0,332	-0,410	-0,340	0,276	-0,266
JUS	-0,100	-0,474	-0,072	0,241	0,400	<b>0,608</b>	<b>-0,518</b>	0,073	0,013	-0,019	0,188	0,023	0,428	0,160
Cor. +	1	0	0	0	3	4	0	1	0	0	0	0	1	0
Cor. -	0	0	1	0	0	0	4	0	2	0	0	0	0	1

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Os valores realçados determinam uma correlação forte. Correlação negativa -  $r \leq -0,5$ . Correlação positiva -  $r \geq 0,5$ .

Nitri: nitrito; Nitra.: nitrato; Sulf.: sulfeto; Cian.: cianeto.

**ARTIGO 3****“Avaliação ambiental realizada por meio de análises citogenéticas, integradas a dados físicos, químicos e meteorológicos.”**

Matheus Mantuanelli Roberto<sup>1</sup>, Raquel Vaz Hara<sup>1</sup>, Maria Tereza Pamplona Silva<sup>1</sup>, Michele Perisatto Berreta<sup>1</sup>, Laís Roberta Deroldo Sommaggio<sup>1</sup>, Dânia Eliza Christofolletti Mazzeo<sup>1</sup>, Dejanira de Franceschi de Angelis<sup>2</sup>, Maria Aparecida Marin-Morales<sup>1\*</sup>.

1. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro/SP.
2. Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro/SP.

\*Autor correspondente: Avenida 24 A, 1515, Bela Vista, 13.506-900, Rio Claro/SP. E-mail: mamm@rc.unesp.br, TEL. +55 19 35264143.

## Resumo

As atividades antrópicas têm comprometido a qualidade das águas superficiais e, dentre estas atividades, a indústria do petróleo se destaca, por ser uma das principais responsáveis pelo uso da água e descarte de efluentes nos recursos hídricos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o sistema de tratamento de efluente de uma refinaria de petróleo e, conseqüentemente, verificar os possíveis impactos que este efluente promove nos corpos d'água receptores, por meio dos testes de aberrações cromossômicas e de micronúcleos em *Allium cepa*. O levantamento de dados meteorológicos do período estudado (primavera de 2009 ao inverno de 2013) permitiu determinar um regime climático caracterizado como do tipo clima tropical de altitude, com períodos frios secos e quentes chuvosos. As análises físicas e químicas realizadas com as amostras de águas coletadas permitiram determinar que poucos dos parâmetros avaliados estavam em desacordo com a legislação brasileira e muitos mostraram não serem influenciados pela atividade petrolífera. Já as análises citogenéticas permitiram inferir que o efluente da refinaria não foi capaz de comprometer a qualidade do rio Atibaia, pois não foram evidenciados danos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos relevantes sobre o organismo-teste *A. cepa*, quando esse organismo foi exposto a amostras de água coletadas a jusante do despejo do efluente da refinaria. A partir destes três grupos de variáveis, foi utilizado o teste de correlação canônica para tentar determinar quais variáveis meteorológicas, físicas e químicas estariam mais relacionadas com a indução de danos biológicos. Embora este teste tenha se mostrado fraco na determinação destes principais fatores, talvez pela fraca toxicidade dos recursos hídricos analisados, ele serviu para demonstrar a possibilidade de sua utilização em testes ecotoxicológicos.

**Palavras-chave:** *Allium cepa*, parâmetros físicos, parâmetros químicos, sazonalidade, temperatura, pluviosidade, efluentes industriais.

## 1. Introdução

A poluição aquática é um problema global que afeta diretamente a saúde humana, mas que também pode causar efeitos mutagênicos ou tóxicos que desencadeiam, a longo prazo, doenças crônico-degenerativas (RADIC' et al., 2010). A contaminação dos recursos hídricos geralmente ocorre pelo lançamento de efluentes, que contém diversas substâncias tóxicas como metais, derivados industriais, pesticidas e outros que, quando se misturam, podem agravar ainda mais as condições ambientais e comprometer os ecossistemas aquáticos (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009). Dentre os efluentes considerados impactantes para o ambiente, estão os

derivados da indústria petroquímica, que lança uma série de contaminantes, como os metais e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), resultantes do processo de refino do petróleo (RODRIGUES et al., 2010). Além disso, este tipo de indústria utiliza grandes volumes de água em seus processos que, depois de tratados, retornam ao ambiente. De acordo com El-Naas et al. (2014), essa quantidade de água usada pela refinaria, para o refino do petróleo, e que é transformada em efluente, equivale a 25% do volume total de petróleo processado.

Deste modo, a necessidade de se identificar os compostos contaminantes que reagem com o DNA, visando assegurar a qualidade ambiental para os seres vivos, tem estimulado o desenvolvimento de diversos ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade, com uma ampla variedade de espécies. Dentre estas, o vegetal superior *Allium cepa*, tem se destacado na avaliação de danos cromossômicos e distúrbios no ciclo mitótico, devido a sua cinética de proliferação e características citogenéticas que possui, tais como cariótipo simétricos, cromossomos grande e em número reduzido ( $2n = 16$ ) (RANK & NIELSEN, 1998; MATSUMOTO et al., 2006; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Os testes do micronúcleo (MN) e de aberrações cromossômicas (AC) feitos com *A. cepa* permitem realizar uma rápida avaliação dos efeitos genotóxicos das substâncias químicas que estão presentes no ambiente (LEME et al., 2008). De acordo com Leme; Marin-Morales (2009), além destes testes, temos ainda a análise de alterações no índice mitótico (I.M.), que se caracteriza como um parâmetro de citotoxicidade. Com esta análise é verificado se há aumento ou redução no número total de células em divisão, em relação aos resultados das contagens registradas no controle negativo. A frequência de células com núcleos heteropicnóticos, núcleo ou citoplasma vacuolizados ou fragmentação nuclear também pode ser utilizada como um critério adicional na avaliação do potencial citotóxico (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009).

Os testes de toxicidade e de genotoxicidade, que visam avaliar os efeitos de misturas complexas sobre organismos-vivos, podem ser realizados sozinhos ou em combinação com análises químicas (ŽEGURA et al., 2009). Leme; Marin-Morales (2009) relatam alguns trabalhos que utilizaram as análises químicas associadas aos teste de genotoxicidade, na tentativa de descobrir quais seriam os compostos que estariam relacionados aos efeitos observados.

Devido ao exposto acima, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar qual a relação existente entre a característica meteorológica, bem como os parâmetros físicos e químicos de amostras de água de um rio receptor de efluente de uma refinaria (estado de São Paulo, Brasil), e o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico destas águas, testes estes realizados com o sistema-teste *Allium cepa*. Também foi objetivo deste trabalho avaliar a eficácia do tratamento de

efluente realizado pela refinaria e determinar a influência das atividades da refinaria sobre os rios Jaguari e Atibaia.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Área de estudo

A refinaria de petróleo, localizada na cidade de Paulínia - SP, está instalada em uma região de grande disponibilidade hídrica. A refinaria capta água do rio Jaguari, a utiliza nas suas atividades de refino do petróleo, trata as águas servidas e libera o seu efluente no rio Atibaia. Deste modo, sete pontos de coleta de água foram estabelecidos para análise: CRJ - zona de captação de água da refinaria, realizada no rio Jaguari (22° 21' 48"S; 47° 08' 59"W); TFQ - saída do tratamento físico-químico e entrada do tratamento biológico (22° 44' 18.5"S; 47° 07' 22.5"W); ETB - saída da estação de tratamento biológico e entrada da lagoa de estabilização (22° 44' 46"S; 47° 07' 22"W); LE-E - saída da lagoa de estabilização (efluente tratado da refinaria) (22° 44' 42"S; 47° 07' 26"W); MRA - ponto do rio Atibaia localizado a 200 metros a montante do local de despejo do efluente (22° 44' 46"S; 47° 07' 22"W); JRA1 - ponto do rio Atibaia localizado a 300 metros a jusante do local de despejo do efluente (22° 44' 27"S; 47° 07' 33"W); JRA2 - ponto do rio Atibaia localizado a 800 metros a jusante do local de despejo do efluente (22° 44' 22.3"S; 47° 07' 40.8"W) (figura 1).

O monitoramento ambiental teve início na primavera de 2009 e término no inverno de 2013, totalizando 16 coletas sazonais de amostras de água e efluente.

### 2.2. Análises físicas e químicas

As análises físicas e químicas foram realizadas pelo Departamento de Bioquímica e Microbiologia (Instituto de Biociências) e pelo Centro de Estudos Ambientais (CEA), ambos pertencentes ao campus da Unesp de Rio Claro/SP. Foram avaliados os parâmetros: turbidez, transparência (para as amostras dos rios), cor aparente, temperatura, condutividade, sólidos totais (S.T.), sólidos sedimentáveis (S.S.), matéria volátil (M.V.), matéria residual fixa (M.F.R.), oxigênio dissolvido (O.D.), demanda química de oxigênio (D.Q.O.), demanda bioquímica de oxigênio (D.B.O.), pH, cloretos totais, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, sulfetos, cianeto, arsênio, mercúrio, óleos e graxas, íons (sódio, potássio, silício, magnésio, cálcio, estrôncio, alumínio, fósforo, ferro e bário), coliformes totais, coliformes termotolerantes (*E. coli*) e bactérias heterotróficas (para todas as amostras analisadas neste estudo).

Também foram realizadas análises da presença dos seguintes HPAs nas amostras dos pontos LE-E, MRA e JRA2, por meio de cromatografia gasosa: cresóis totais, fenóis, BTEX, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, acenaftileno, pireno, acenafteno, fluoranteno, naftaleno, benzo(a)antraceno, fluoreno, antraceno, benzo(g,h,i)pirileno, fenantreno, dibenzo(a,h)antraceno, indeno(1,2,3,cd)pireno.

### 2.3. Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos, relativos às datas das coletas das amostras de água, foram gentilmente cedidos pela Estação Meteorológica do Centro de Análise e Planejamento Ambiental (CEAPLA/IGCE/UNESP), Rio Claro/SP.

### 2.4. Bioensaios com *Allium cepa*

As amostras de água coletadas no interior da refinaria e nos rios do seu entorno foram acondicionadas em geladeiras (Laboratório de Mutagênese Ambiental do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro/SP), a  $4,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$  por, no máximo, 5 dias, antes de serem processadas nos diversos ensaios.

Os ensaios com sementes de *A. cepa* (cebola), da marca Isla Sementes Ltda., variedade baía Periforme, foram realizados expondo-se 100 sementes, de maneira contínua, às amostras coletadas. A germinação foi processada em placas de Petri revestidas com papel filtro umedecido (uma placa de Petri para cada ponto estabelecido), mantidas em estufa incubadora ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), até as radículas atingirem, aproximadamente, 1,5 cm de comprimento.

Quando o tamanho ideal foi atingido, depois de cerca de 5 dias de exposição, as raízes foram coletadas, fixadas e processadas de acordo com Bianchi et al. (2011), utilizando-se Carnoy I (etanol/ácido acético - 3:1) para a fixação, por 24 horas, hidrólise ácida em HCl 1N a  $60^\circ\text{C}$ , por oito minutos, e coloração em reativo de Schiff, pela reação de Feulgen, por duas horas. Após a coloração, foram confeccionadas lâminas com os meristemas, contra-corados com uma gota de carmim-acético (2%). As lâminas foram recobertas com lamínula e os meristemas prensados, suavemente, para melhor espalhamento do material. As lamínulas foram retiradas em nitrogênio líquido e, após secagem *overnight*, foram montadas com resina sintética, para serem, posteriormente, analisadas sob microscopia de luz.

Os testes controle foram desenvolvidos a partir da germinação das sementes em água ultrapura (controle negativo - CN) e em solução aquosa de metilmetano sulfonato (MMS, Sigma-Aldrich, CAS 66-27-3 / controle positivo - CP) a  $4 \times 10^{-4}$  M.

As amostras do TFQ foram utilizadas sem diluição, até a estação de inverno de 2011. No entanto, na coleta da primavera de 2011, foi observada uma inibição da germinação das sementes pelas amostras deste ponto de coleta, o que impossibilitou a análise dos *endpoints* estabelecidos. Assim, a partir desta coleta, a amostra deste ponto passou a ser diluída, na proporção de 2:1 (2 partes de água ultrapura/1 parte de amostra do TFQ), o que permitiu a continuidade das avaliações.

Para a análise das aberrações cromossômicas e nucleares (AC), foram considerados diferentes tipos de anormalidades (perdas, quebras, fragmentos, pontes, atrasos cromossômicos, broto nuclear, células binucleadas, entre outros) nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase, telófase). Como as alterações encontradas são decorrentes de efeito genotóxico, elas foram reunidas em um só grupo, considerado como *endpoint* de genotoxicidade. Para avaliar os efeitos mutagênicos, foram contabilizadas células micronucleadas (MN). O índice mitótico (I.M.), relacionado com o número de células em divisão, e a frequências de células em processo de morte celular (citoplasma e/ou núcleo vacuolizado, núcleo heteropicnótico, entre outros), serviram como critério de avaliação de citotoxicidade, constituindo um terceiro parâmetro de avaliação. O índice mitótico foi calculado pela razão entre o número total de células em divisão sobre o total de células observadas, cujo resultado foi multiplicado por 100, para se obter uma porcentagem.

A análise destes parâmetros se deu pela contagem, em microscopia de luz sob o aumento de 400X, de cerca de 500 células por lâmina, sendo dez lâminas para cada ponto de coleta, totalizando 5.000 células por amostra avaliada.

## 2.5. Análises estatísticas

A análise estatística realizada, com relação ao potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas coletadas nos diversos pontos de coleta, para a mesma estação do ano, foi o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn de comparação múltipla, com a confiabilidade de 95% ( $p < 0.05$ ), por meio do software GraphPad Prism 6.00 para Mac OS X (GraphPad Software – La Jolla, California, EUA).

Os dados de citotoxicidade, genotoxicidade e de mutagenicidade foram ainda submetidos à análise de correlação multifatorial canônica (CCa), com a finalidade de integrar resultados biológicos, físicos e químicos e, assim, determinar os possíveis indutores das alterações observadas no organismo teste utilizado. A análise por CCa foi feita pelo software XLSTAT® versão 2014.4.09 (Addinsoft SARL – Paris, França), incorporado como macro ao Microsoft Excel® versão 2011 para Mac OS X (Microsoft Corporation – Redmond, EUA).

### 3. Resultados e discussão

Os resultados da avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das amostras de água coletadas no entorno e no interior da refinaria de petróleo foram obtidos a partir da exposição e análises das respostas toxicogenéticas de sementes de *Allium cepa* (cebola).

Os resultados biológicos foram organizados de modo que se permitissem as comparações da qualidade das águas do entorno da refinaria (CRJ, MRA, JRA1 e JRA2), das águas captadas (CRJ), utilizadas e tratadas pela empresa (TFQ, ETB e LE-E). Todos os resultados obtidos também foram comparados, estatisticamente, com o CN, ao mesmo passo que o CN foi comparado com o CP, afim de se validar a sensibilidade do organismo-teste.

Os dados meteorológicos obtidos estão apresentados nas tabelas 1 e 2. Para a integração desse parâmetro com os demais dados estudados (físicos, químicos e biológicos), foi considerado o índice de pluviosidade registrado para a última precipitação ocorrida antes da coleta, a média e o valor acumulado de chuvas nos últimos 15 dias antes da coleta e os níveis máximo e mínimo de chuva para o mesmo período. Os valores estão apresentados em mm de chuva (tabela 1). Além disso, também foram registrados os valores de temperatura no dia da coleta e as médias de temperatura nos últimos 15 dias antes da coleta, incluindo a média dos valores máximos e mínimos, com valores registrados em graus Célsius (tabela 2).

Os resultados das análises físicas e químicas foram utilizados na construção dos gráficos apresentados nas figuras 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Para a confecção dos gráficos foram utilizadas as médias e os desvios padrões dos valores obtidos ao longo das 16 coletas de amostras de água. Para facilitar a compreensão e comparação, os resultados do CRJ e do MRA foram apresentados na forma de linhas, enquanto os outros foram apresentados na forma de colunas. Deste modo, os parâmetros obtidos para o CRJ e para o MRA servem como referências para os outros pontos de coleta. Além disso, na tabela 3, estão apresentados os registros dos valores que ultrapassaram os valores máximos permitidos (V.M.P.) pela legislação vigente (resoluções 357/2005 e 430/2011 do CONAMA), que regulamenta as condições de águas e de efluente, respectivamente.

Quanto à análise de HPAs, nenhum deles foi identificado nas amostras de água. A legislação preconiza os valores de detecção iguais a: cresóis totais ( $< 0,30 \mu\text{g/L}$ ), fenóis ( $< 0,01 \mu\text{g/L}$ ), BTEX (mp-Xileno  $< 2,00 \mu\text{g/L}$ ; tolueno, etilbenzeno, xileno  $< 1,00 \mu\text{g/L}$ ; benzeno  $< 0,001 \mu\text{g/L}$ ), e  $0,01 \mu\text{g/L}$  para os demais. Dos HPAs analisados e que constam na resolução do CONAMA 357/2005 (para as águas do rio Atibaia) e na resolução do CONAMA 430/2011 (para o efluente), o valores máximos permitidos são superiores ao limite de detecção, portanto todas as amostras coletadas estão de acordo com os limites preconizados na legislação e não serão discutidos.



Os resultados das análises citogenéticas estão apresentados nas tabelas de 4 a 11. Esses valores foram considerados separadamente (amostras coletadas dentro da refinaria e nos rios do seu entorno), para se avaliar tanto a eficácia do tratamento do efluente realizado pela empresa como o possível impacto deste efluente sobre os rios localizados no entorno da refinaria. Os resultados estão organizados de acordo com os *endpoints* avaliados (I.M., morte celular, AC e MN), conforme sugerido por Leme; Marin-Morales (2009) e Bianchi et al. (2011).

Já os resultados dos testes de correlação realizados, estão apresentados nas tabelas 12, 13 e 14, indicando os valores de correlações consideradas fortes, ou seja,  $r \leq -0,5$  (negativas) ou  $r \geq 0,5$  (positivas). A correlação foi considerada relevante, de acordo com o padrão observado entre os parâmetros analisados.

As condições climáticas do estado de São Paulo, segundo a classificação de Köppen, definem um tipo de clima dominante denominado Cwa, que corresponde ao clima tropical de altitude, por apresentar chuvas no verão e seca no inverno, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C (MIRANDA et al., 2014). De acordo com a tabela 1, observam-se que as estações do ano com maior pluviosidade são a primavera e o verão, corroborando a classificação climática de Köppen. Em relação a temperatura, é possível observar que apenas o inverno de 2010 não correspondeu ao esperado, pois apresentou uma média de 22,24 °C (tabela 2), ou seja, superior ao esperado para o mês mais quente, de acordo com Miranda et al. (2014). Apesar disso, é possível discriminar dois regimes climáticos anuais distintos: um período frio e seco e outro quente e chuvoso (tabelas 1 e 2).

Sobre os parâmetros físicos e químicos, é possível observar que alguns deles extrapolam os valores preconizados pela legislação, conforme a tabela 3. Na figura 2 estão apresentados os gráficos das médias dos coliformes totais, das bactérias heterotróficas e da cor aparente.

Em relação aos coliformes totais, não há um valor máximo permitido (V.M.P.) estabelecido, porém é possível notar que as águas do rio Atibaia, na área JRA1, contém abundância deste tipo de microrganismo. Como os dados obtidos para o efluente (LE-E) e para a área a montante (MRA) não foram expressivos, acredita-se que na área do ponto JRA1 exista alguma fonte de lançamento de esgoto, externa à refinaria de petróleo. No entanto, essa ocorrência parece ser pontual, bem localizada, já que o ponto mais a jusante (JRA2) apresentou-se nos mesmos níveis do MRA e CRJ, que foram semelhantes e sobrepuseram-se no gráfico.

Quanto às bactérias heterotróficas, os maiores valores registrados foram referentes às amostras do TFQ, que foram gradualmente diminuindo até o LE-E. Esse parâmetro representa um conjunto de microrganismos, inclusive agentes patogênicos, que possa estar presente nas

águas, não sendo recomendado o contato humano. Já as águas dos rios apresentaram valores mais baixos.

Os dois parâmetros acima citados atuam em conjunto com outros parâmetros para determinar a cor aparente das amostras de água. Dos pontos avaliados, a cor aparente do TFQ mostrou-se a mais intensa, mas que também foi gradualmente diminuindo a cada etapa do tratamento feito pela refinaria. É possível notar que as águas do CRJ já possuem uma cor aparente elevada, o que também pode contribuir para os valores do TFQ, ETB e LE-E. Em relação ao rio Atibaia, os valores obtidos também são altos, mas há um aumento na área JRA1, que pode ser um resultado aditivo do MRA com o LE-E. Grande parte das amostras apresentaram valores superiores ao limite de 75 mg Pt/L, indicado para as águas dos rios. No caso do efluente não há um V.M.P. definido, portanto o mesmo foi utilizado como referência.

Em relação ao potencial hidrogeniônico (pH), todas as amostras de águas e quase todas de efluente respeitaram os limites estabelecidos pelas resoluções 357/2005 e 430/2011. Pela figura 3, observa-se um aumento no pH durante o tratamento do efluente, porém o valor final (LE-E) não excedeu o limite de 9,0, assim como as águas dos rios também permaneceram dentro da faixa de 6,00 a 9,00, que é permitida pela legislação.

A condutividade não é regulamentada pelo CONAMA, porém a CETESB possui uma recomendação de que os valores não ultrapassem 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , pois acima disso poderia indicar a presença de contaminantes (CETESB, 2014). Por meio da figura 3, observam-se altos valores para o efluente e valores mais baixos para as amostras de águas provenientes dos rios. Contudo, o CRJ apresentou, aproximadamente, 56% de suas amostras acima do limite estabelecido pela CETESB, enquanto que os outros pontos apresentaram cerca de 93% das amostras coletadas, com valores acima deste limite. Apesar de o LE-E ter um alto valor de condutividade, o que ainda corresponderia a uma grande contaminação, isso parece não ter afetado a qualidade das águas a jusante do rio Atibaia (JRA1 e JRA2). No trabalho de Bianchi et al. (2011), a qualidade do rio Monjolinho, localizado em São Carlos/SP, Brasil, também foi aferida por meio da análise de parâmetros físicos e químicos, cuja condutividade ultrapassou o limite de 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  em áreas poluídas. Nossos dados corroboram estas informações, indicando a presença de contaminantes nos rios Jaguari e Atibaia, porém de origem desconhecida.

A temperatura é um fator importante a ser considerado pois está diretamente relacionada com a disponibilidade de substâncias químicas nos corpos d'água e com o aumento de danos ao DNA, conforme mostrado por De Andrade (2004). Em relação a este parâmetro, existe regulamentação apenas para efluentes, sendo que a resolução 430/2011 (CONAMA, 2011) determina que os efluentes só podem ser lançados nas águas superficiais com temperatura

inferior aos 40°C. Durante o tratamento do efluente, nota-se que a temperatura é elevada no tratamento físico-químico (TFQ), pois esta amostra corresponde ao ponto de coleta imediatamente após o uso da água no refino do petróleo. Conforme o tratamento vai sendo realizado, a temperatura vai diminuindo, até o efluente ser lançado com menos de 30°C. A temperatura registrada para as amostras dos rios são muito semelhantes, conforme pode ser visto na figura 3.

A turbidez representa o grau de atenuação da intensidade de um feixe de luz ao atravessar a água. Este parâmetro está intimamente ligado à cor aparente (figura 2) e à matéria orgânica presente (série de sólidos e matérias – figura 4). Apenas as águas dos rios possuem regulamentação para a turbidez, prevista na resolução 357/2005 (CONAMA, 2005), cujo V.M.P. é de 100 NTU. Sendo assim, cerca de 18% das coletas realizadas no CRJ apresentaram valores acima do permitido, enquanto as águas do rio Atibaia apresentaram menores valores, com apenas uma coleta registrada acima do limite (tabela 3). Em relação ao tratamento, se o efluente tivesse que seguir a mesma resolução das águas dos rios, apenas as amostras do TFQ estariam em desacordo. Como o LE-E apresentou média menor que 20,0 NTU (figura 3), acredita-se que o mesmo não esteja interferindo na qualidade das águas do rio Atibaia. Esse resultado demonstra que o tratamento da refinaria está sendo eficaz na remoção de partículas do efluente.

Segundo Briggs et al. (2003), medições da turbidez podem dar uma rápida indicação de um ambiente contaminado, sendo que a concentração destes contaminantes seria diretamente proporcional ao nível de turbidez. A turbidez também foi associada à presença de contaminantes, pois este parâmetro pode indicar que uma grande quantidade de matéria particulada pode carregar diversos poluentes (BRITO-PELEGRINI et al., 2007). Deste modo, este parâmetro indica que os rios Jaguari e Atibaia possuem baixos níveis de matéria em suspensão, porém estas características podem variar de acordo com a pluviosidade.

Foram evidenciados, em relação aos sólidos totais, altos níveis para as amostras coletadas durante o tratamento do efluente (TFQ, ETB e LE-E - figura 4), mesmo que este tenha reduzido conforme as etapas de limpeza. As águas coletadas nos rios apresentaram-se concordantes com o limite de 500,0 mg/L, tanto para rios de classe II (Jaguari) quanto de classe IV (Atibaia).

Em relação aos sólidos sedimentáveis, existe apenas regulamentação para os efluentes (resolução 430/2011 – CONAMA, 2011), que limita em 1,0 mL/L. As águas dos rios também foram comparadas com esta resolução, mas os resultados dessa comparação mostraram que as amostras dos rios também respeitaram, em grande parte, este V.M.P. Também evidenciou-se a redução deste parâmetro, durante a sequência do tratamento realizado pela refinaria.

Quanto aos parâmetros de matéria volátil (M.V.) e matéria fixa residual (M.F.R.), ambas não são regulamentadas pelas resoluções do CONAMA (2005, 2011). A M.V. apresentou-se maior para o TFQ e menor para o LE-E, para os pontos estabelecidos durante o tratamento, e maior para o CRJ e menor para o MRA, em relação aos rios (figura 4). A M.F.R. foi observada em valores muito altos para TFQ, ETB e LE-E e bastante baixos para as amostras de águas dos rios. Esse parâmetros, assim como o S.T. e o S.S. servem como indicativos para determinar a quantidade de matéria orgânica e inorgânica em uma amostra de água, que podem ser provenientes de atividades antrópicas ou naturais, como o arraste provocado pelas águas das chuvas.

A série de sólidos, principalmente os sólidos totais, pode causar toxicidade pelo aumento da salinidade, pelas mudanças na composição iônica da água e ou pela toxicidade individual de alguns íons. O aumento na salinidade está relacionado a mudanças na comunidade aquática, limitação na biodiversidade e seleção das espécies menos resistentes aos sais (WEBER-SCANNELL; DUFFY, 2007). De acordo com Leal; Libânio (2002) a concentração de sólidos totais pode estar relacionada a presença de efluentes industriais (ex. curtume e indústrias têxtil, de papel e de pigmentos) e domésticos nos corpos d'água.

Na figura 5 foram apresentados os resultados dos parâmetros oxigênio dissolvido (O.D.), demanda química de oxigênio (D.Q.O.) e demanda bioquímica de oxigênio (D.B.O.). Estes parâmetros estão intimamente relacionados, pois a disponibilidade de oxigênio dissolvido em uma amostra de água vai depender diretamente de sua demanda, seja ela química (pela reação com substâncias químicas) ou bioquímica (pelo consumo realizado por organismos vivos). Destes, o O.D. é regulamentado por ambas as resoluções do CONAMA, com limites mínimos de 5,0 mg/L para rios de classe II e de 2,0 mg/L para rios de classe IV. Enquanto as águas do rio Atibaia respeitaram os limites propostos, o CRJ teve 25% de suas amostras com taxas de O.D. abaixo do recomendado. Em relação ao tratamento do efluente, observa-se que há um aumento progressivo na taxa de O.D., com o efluente sendo liberado com níveis superiores aos do JRA1 e do JRA2.

Enquanto o D.Q.O. não possui um limite estabelecido, o D.B.O. é limitado em 5,0 e 10,0 mg/L, para as classes II e IV, respectivamente. Para o efluente, existe somente uma recomendação de redução de, no mínimo, 60% do D.B.O. observado no início do processo de tratamento para o efluente a ser lançado no corpo d'água. De acordo com a tabela 3, vemos que a maioria das amostras de rios ultrapassaram os limites estabelecidos de D.B.O., porém ao serem comparados os valores iniciais (TFQ) e finais (LE-E), foi possível notar uma redução de 93,65%

da D.B.O.. Isso indica que há atividade microbiana aeróbica desde o TFQ até o LE-E, que reduzem os níveis de oxigênio disponíveis para os outros organismos vivos.

Quanto ao D.Q.O., é nítida a presença de substâncias químicas que reagem com o O.D. no TFQ, ETB e LE-E. Essas substâncias podem ser contaminantes, que podem comprometer a qualidade da água e prejudicar a biota submetida à ela. O consumo químico do oxigênio pode ainda ocorrer pela presença de grandes concentrações de matéria orgânica, o que corrobora as informações da série de sólidos e matérias já discutidas.

O oxigênio é essencial para a manutenção da vida aquática, sendo produzido e liberado pelos organismos fotossintetizantes e consumido pelos organismos aeróbios. Por isso, é necessária a manutenção de uma concentração mínima deste gás dissolvido na água, para que o ecossistema aquático não seja prejudicado. De acordo com Chapman (1996), concentrações de oxigênio abaixo de 5,0 mg/L podem comprometer a estabilidade das comunidades aquáticas, enquanto concentrações menores de 2,0 mg/L pode induzir a mortalidade da maioria das espécies de peixes.

Neste trabalho também foram analisados os parâmetros inorgânicos, como a concentração de cloretos, amônia, nitrito e nitrato (figura 6). A concentração de cloreto foi alta para as amostras de efluente, extrapolando o limite de 250 mg/L estabelecido pelo CONAMA (430/2011 para efluentes e 357/2005 para rios) e abaixo do limite estabelecido pela legislação para as amostras de águas dos rios. Desta forma, embora os limites de cloreto tenham sido altos para o efluente, não houve interferência desse composto na qualidade das águas do rio Atibaia. Quanto à concentração de amônia, seus valores máximo permitidos são dependentes do pH e por isso não estão apresentados na tabela 3. A resolução CONAMA 357/2005 determina que rios de classes I e II devem ter valores menores que 0,5 mg/L ( $\text{pH} > 8,5$ ), 1,0 mg/L ( $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$ ), 2,0 mg/L ( $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$ ) e 3,7 mg/L ( $\text{pH} \leq 7,5$ ) e rios de classes III e IV devem ter 1,0 mg/L ( $\text{pH} > 8,5$ ), 2,2 mg/L ( $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$ ), 5,6 mg/L ( $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$ ) e 13,3 mg/L ( $\text{pH} \leq 7,5$ ). Já a resolução 430/2011 estabelece que o efluente não pode ter mais que 20,0 mg/L de nitrogênio amoniacal em sua composição. Deste modo, é possível ver que apenas o TFQ excedeu os limites estabelecidos, em todas as coletas. Mas, de acordo com a legislação, o efluente final lançado no rio Atibaia apresentou-se adequado nos seus valores de amônia. Os altos níveis de amônia estão relacionados com o consumo de oxigênio, quando esse é oxidado biologicamente, sendo denominada de D.B.O. de segundo estágio (CETESB, 2014). Levando em consideração essa informação, é possível justificar os baixos níveis de O.D. no TFQ com atividade microbiana, pois este mesmo ponto de coleta apresentou altos níveis de amônia (figura 6), D.Q.O. e D.B.O. (figura 5) e altos números de coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas (figura 2), que

podem ter provocado um efeito aditivo e uma redução drástica deste elemento tão importante para os seres vivos aquáticos.

Quanto às concentrações de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), podemos observar valores decrescentes (figura 6), em relação aos pontos TFQ, ETB e LE-E. No entanto, a legislação só determina limites destes compostos para as águas dos rios, e não para o efluente. Deste modo, pela tabela 3, podemos observar que a maioria das amostras dos pontos CRJ, MRA, JRA1 e JRA2 não ultrapassou o limite de 1,0 mg/L e 10,0 mg/L de nitrito e nitrato, respectivamente. É de conhecimento geral, de acordo com o ciclo do nitrogênio, que a amônia, o nitrito e o nitrato estão diretamente relacionados entre si, sendo que, pela nitrificação, a amônia é convertida em nitrito por bactérias do gênero *Nitrosomonas* e o nitrito é convertido em nitrato pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. Deste modo, é possível inferir que, se estes gêneros estiverem presentes durante o tratamento biológico e na lagoa de estabilização, os níveis de amônia tenderiam a diminuir, enquanto as concentrações de nitrito e nitrato tenderiam a aumentar.

Em relação ao sulfeto, as duas resoluções do CONAMA (357/2005 e 430/2011) estabelecem um V.M.P. para os corpos hídricos e os efluentes. Nos resultados apresentados (figura 7 e tabela 3), apenas as amostras coletadas no rio Jaguari (CRJ) ultrapassaram o limite de 2,0  $\mu\text{g/L}$ , em 12 das 16 coletas realizadas. Isso indica que existe alguma fonte de lançamento de sulfetos neste rio, que poderiam ser efluentes domésticos, devido à produção de  $\text{H}_2\text{S}$  por bactérias, e as indústrias que fazem coberturas metálicas (VAN HILLE et al., 2005; WRIGHT et al., 2012). Embora El-Naas et al. (2014) relatem que os sulfetos geralmente se encontrem presentes nos efluentes de refinarias de petróleo, nossos resultados mostraram que o tratamento realizado na refinaria foi eficiente na remoção deste composto (ETB e LE-E - figura 7).

Os V.M.P. para o cianeto são baixos, devido à sua conhecida toxicidade. A resolução CONAMA 357/2005 determina que os rios de classe II não ultrapassem o valor de 0,005 mg/L, enquanto os de classe IV não ultrapassem 0,022 mg/L. Já a resolução CONAMA 430/2011 determina que o efluente não possua mais que 1,0 mg/L de cianeto. Pela figura 7, é possível visualizar que a amostra do TFQ apresentou valores além do limite estabelecido para o cianeto. Porém, estes valores caem no ETB e no LE-E, tornando o efluente adequado à legislação. Em relação aos rios, embora haja semelhança entre os resultados (tanto que a linha do CRJ está sobreposta à linha do MRA – figura 7), é possível verificar, pela tabela 3, que 7 das 16 amostras coletadas no CRJ excederam o limite vigente, enquanto nenhuma do MRA mostraram-se em desacordo com a legislação. Isso se deve ao maior rigor da legislação, quanto às classes II de águas superficiais (CRJ).

As análises físicas e químicas também verificaram as concentrações de arsênio e selênio nas diferentes amostras de água e efluente (figura 7). Neste caso, praticamente todas as amostras coletadas respeitaram os limites impostos, pois estes compostos não foram encontrados em quantidades que pudessem comprometer a biota (tabela 3). Este resultado é importante, pois o arsênio é reconhecido como um elemento tóxico (JOMOVA et al., 2011) enquanto o selênio pode bioacumular e induzir toxicidade (BESSER et al., 2012).

Em relação aos óleos e graxas presentes na amostra, a resolução CONAMA 357/2005 determina que estes devem estar virtualmente ausentes em recursos hídricos de classe I, II e III, e são tolerados em rios de classe IV. Esta análise só foi realizada para as amostras do LE-E, MRA e JRA2, que revelaram a presença de óleos e graxas (figura 8). No caso dos efluentes, a resolução CONAMA 430/2011 estabelece o limite de 20,0 mg/L para óleos minerais e de 50,0 mg/L para óleos vegetais e gorduras animais. Como na análise realizada não houve a discriminação do tipo de óleo ou graxa presente, foi usado o limite de óleos minerais como norma para o efluente, sendo que o LE-E apresentou valores abaixo do limite previstos na legislação. No caso do MRA e do JRA2, apesar dos óleos e graxas estarem presentes, as amostras satisfazem a legislação, pois é permitida sua presença, mas mesmo assim as concentrações foram semelhantes às do LE-E, ou seja, abaixo de 20,0 mg/L. De acordo com a CETESB (2014), a presença de óleos e graxas acarretam em problemas estéticos e, principalmente, diminui a área de contato entre a superfície da água e o ar atmosférico, impedindo a transferência de oxigênio para a água.

Pela análise química também foi possível verificar a concentração dos metais mercúrio (Hg), alumínio (Al) e ferro (Fe) (figura 8). No caso do mercúrio, as concentrações encontradas foram inferiores a 1,0 µg/L, portanto dentro dos limites pré-estabelecidos (tabela 3) para rios de classe IV e para os efluentes. No entanto, para o CRJ, o limite mínimo de detecção da análise química realizada (1,0 µg/L) foi superior ao V.M.P. estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005 (0,20 µg/L), ou seja, não podemos inferir se estas amostras de águas estão de acordo com a legislação vigente.

Quanto ao Al, os maiores valores observados foram nas amostras do CRJ, sendo que, em cerca de 56% das amostras analisadas, os valores obtidos excederam ao limite de 0,10 mg/L (tabela 3). As amostras coletadas nas áreas MRA, JRA1 e JRA2 também continham Al em sua composição em, aproximadamente, 37,5% das coletas. Isso demonstra que o rio Jaguari, a montante do local de captação de água pela refinaria, e o rio Atibaia são alvos do despejo de efluentes ricos neste metal ou recebem esse metal por outra via de contaminação (carreamento de compostos agrícolas usados na região), o que pode comprometer a biota local. Essa informação pode ser relevante, pois Lima et al. (2011) descreveram que o Al e seus compostos derivados, em

altas concentrações, são capazes de induzir danos ao DNA, principalmente pela indução de estresse oxidativo. Em grandes concentrações, o Al acomete diversos organismos, inclusive os vegetais, conforme descrito por Barabasz et al. (2002). Estes autores destacam que este metal pode induzir diversas alterações morfológicas nas raízes dos vegetais, comprometendo seu crescimento e desenvolvimento.

Como não existem limites para Al, preconizados na legislação para os efluentes, se considerássemos para eles os limites estabelecidos para os rios de classe IV (0,20 mg/L), a concentração registrada para o TFQ estaria sendo reduzida até o LE-E, cujos índices de Al estariam enquadrados na norma.

As análises da presença de ferro (Fe) apontaram, novamente, os maiores valores para os rios Jaguari (CRJ) e Atibaia (montante - MRA) (figura 8). Ambas as resoluções CONAMA (357/2005 e 430/2011) possuem limites para a concentração de Fe, mas apenas as amostras coletadas no CRJ estiveram acima do permitido (0,30 mg/L). Segundo Lima et al. (2011), o Fe pode ser encontrado no efluente despejado pelas indústrias metalúrgicas e, em grandes concentrações, pode ser um indutor de estresse oxidativo nos organismos vivos, resultando em danos ao matéria genético. O Fe livre pode danificar as moléculas de DNA por causa do estresse oxidativo, induzidos pelos radicais hidroxila liberados durante a ação do Fe (BERG et al., 2001). Sendo assim, acredita-se que na região do entorno da refinaria existam outras atividades antrópicas que estejam lançando estes metais nos corpos d'água.

Junto às análises de metais e outros compostos acima apresentados, também foram realizadas análises para determinar a concentração de alguns tipos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). No entanto, esses compostos não foram encontrados em níveis detectáveis nem no efluente da indústria e tampouco nas águas do rio Atibaia (montante – MRA e a jusante - JRA2).

O uso de *Allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade é muito frequente em estudos de biomonitoramento (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; BIANCHI et al., 2011; SOBRAL et al., 2013). O sistema-teste de *A. cepa* é uma importante ferramenta para os estudos realizados na área da ecotoxicologia, pois permite a avaliação de diversos *endpoints* norteadores dos possíveis efeitos dos contaminantes sobre a biota exposta. Com este organismo teste é possível realizar diferentes ensaios eco e genotoxicológicos, tais como testes de aberrações cromossômicas (AC) e de micronúcleo (MN), de índice mitótico (I.M.) e de frequência de células em processo de morte (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

No presente trabalho, os resultados das análises citogenéticas, obtidas com este sistema-teste exposto às diferentes amostras testadas, indicaram poucas alterações celulares (tabelas de 4 a



11). Na tabela 4 foram apresentados os I.M. obtidos para as amostras referentes ao tratamento de efluente realizado pela refinaria (CRJ, TFQ, ETB e LE-E) e comparados estatisticamente entre si. Na primavera de 2009, a única alteração observada foi em relação ao I.M. das raízes expostas a amostra da ETB, que diferenciou, significativamente, do I.M. obtido para a amostra do TFQ. Isso pode indicar que para o TFQ houve uma pequena inibição na proliferação celular, enquanto para o ETB houve um estímulo. No entanto, podemos notar a importância da lagoa de estabilização para o tratamento do efluente da empresa, pois os resultados de I.M. do LE-E não se diferenciaram das demais análises realizadas com as amostras dos rios, inclusive também do CN. Assim, dá para se inferir que, mesmo que houvesse algum contaminante do processo de refino nas águas servidas da empresa que pudessem interferir nesse critério, ele foi neutralizado nesta etapa do tratamento. Já no inverno de 2010, tanto as amostras do TFQ quanto do LE-E induziram a um aumento da divisão das células meristemáticas de *A. cepa*, distanciando, estatisticamente, do CN. Este resultado pode indicar a presença de alguma substância que estimule a divisão celular que, se for descontrolada, pode até mesmo ser considerada como indutora de carcinogenicidade (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Ainda, é possível observar que neste período o sistema de tratamento não foi suficiente para a remoção deste tipo de substância, inclusive os processos biológicos que acontecem na lagoa de estabilização, pois também foi observado um aumento no I.M. induzido pelas amostras do LE-E.

Este evento também foi observado no verão de 2011, quando novamente o LE-E induziu um I.M., significativamente, maior que o apresentado pelo CN. A partir desta data, não foram mais registradas alterações no I.M., o que pode-se estimar que o sistema de tratamento realizado pela refinaria foi aprimorado ao longo dos últimos anos. Nos trabalhos de Hoshina; Marin-Morales (2009) e Rodrigues et al. (2010) também não foram evidenciados efeitos citotóxicos induzidos pelos efluentes de refinarias de petróleo, quando avaliados pelo sistema-teste de *A. cepa*.

De acordo com Olukanni; Ducoste (2011), o uso da lagoa de estabilização no tratamento de efluentes é comum devido ao baixo custo e alta eficiência, principalmente nas regiões tropicais. Ainda segundo estes autores, embora seja baseada em uma tecnologia simples, as lagoas de estabilização tornam-se ecossistemas complexos, compostos por diversas espécies de microrganismos decompositores capazes de estabilizar o efluente orgânico e reduzir sua toxicidade.

Quanto ao outro *endpoint* de citotoxicidade, as frequências registradas de células em processo de morte estão apresentadas na tabela 5. Estes resultados indicam a ausência de substâncias com potencial citotóxico nas águas do rio Jaguari (CRJ) ou nos efluentes tratados pela

refinaria (LE-E). Desta forma, pode-se observar que as nem as características físicas e químicas nem as meteorológicas, registradas para a região e período de estudo, interferiram nas respostas celulares, portanto não se caracterizaram em parâmetros comprometedores para a análise de citotoxicidade realizada com o organismo teste *A. cepa*.

Outro parâmetro avaliado neste trabalho, foi o potencial genotóxico das amostras coletadas no interior da refinaria, portanto durante o tratamento realizado pela empresa, por meio da frequência de aberrações cromossômicas (AC) em *A. cepa*. Pela análise da tabela 6, é possível notar que nenhuma amostra do LE-E foi capaz de induzir danos genotóxicos estatisticamente significativos nas células deste organismo teste, quando comparados ao CN. No verão de 2011, observa-se que as amostras do TFQ foram genotóxicas, em relação ao CN. Por outro lado, já na sequência do tratamento, vemos que as amostras da ETB reduziram significativamente a frequência de AC apresentada na etapa anterior (TFQ), comprovando a importância do tratamento biológico na remoção destes poluentes.

Da mesma forma que foi observado para o potencial genotóxico, nenhuma frequência significativa de danos mutagênicos foi observada, dentre todas as 16 coletas realizadas nos pontos do interior da refinaria (tabela 7). Novamente, isso demonstra que o tratamento realizado pela refinaria tem removido os principais contaminantes genotóxicos do processo de refino, tornando o efluente apto a ser lançado no rio Atibaia sem comprometer a qualidade de suas águas.

Além de ser avaliado o tratamento aplicado pela refinaria de petróleo, também foram avaliados os possíveis impactos que o efluente desta refinaria poderia causar sobre os recursos hídricos no seu entorno.

Em relação ao I.M. podemos notar que foram poucas as amostras que diferiram estatisticamente (tabela 8). No inverno de 2010, apesar de o efluente (LE-E) e as águas a montante do rio Atibaia (MRA) terem induzido um aumento na divisão celular no meristema de cebola, as águas a jusante do lançamento do efluente da refinaria (JRA1 e JRA2) não diferiram dos resultados exibidos pelo CN e nem do CRJ. Esta informação é importante para notar que não houve efeito aditivo e nem sinérgico das substâncias presentes nas duas amostras (LE-E e MRA). No verão de 2011, o efluente (LE-E) e as águas a montante do rio Atibaia (MRA) novamente induziram um aumento do IM dos meristemas radiculares de *A. cepa*, mas neste período as amostras do JRA1 também induziram um alto valor de I.M.. O valor obtido para o JRA1 foi significativo, estatisticamente, quando comparado ao CN e ao CRJ, e este pode ser resultado a ação combinada dos contaminantes presentes no LE-E e no MRA. Apesar deste resultado preocupante, as águas coletadas em um ponto jusante posterior do rio Atibaia (JRA2) (JRA2) apresentaram uma redução significativa no I.M., quando comparado ao JRA1, indicando

uma possível dispersão, diluição ou depuração das substâncias químicas durante o curso do rio. Porém, depois desta estação (verão de 2011), nenhum resultado significativo de I.M. foi observado. Desta forma, podemos ainda sugerir uma possível presença de contaminantes na área do ponto MRA derivados de outras atividades antrópicas da região, já que esta área é altamente industrializada e urbanizada, além de ser cercada de áreas agrícolas. Um outro dado importante e preocupante levantado por este estudo, foi o registro de contaminantes no rio Jaguari, que estão em desacordo com os preditos para rios de classe II, de acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005). Este rio, apresentou alguns parâmetros físicos e químicos acima daqueles preconizados pelos órgãos ambientais, que, mesmo não sendo suficiente para comprometer o bioindicador *A. cepa*, pode caracterizar um comprometimento de suas águas.

Quanto à presença de substâncias citotóxicas, nota-se que nenhum valor significativo foi observado para as águas do rio Atibaia (MRA, JRA1 e JRA2 – tabela 9). Este resultado pode comprovar a ausência de substâncias químicas capazes de inibir a divisão celular ou matar as células.

Os potenciais genotóxicos e mutagênicos das águas dos rios Jaguari e Atibaia, registrados nas tabela 10 e 11, mostram que nenhuma frequência de AC ou MN foi estatisticamente significativa, quando comparada com o CN. Esse resultado demonstra não haver substâncias genotóxicas nem mutagênicas nas águas sob influência da refinaria de petróleo.

Os testes de AC e MN, realizados pelo sistema-teste de *A. cepa*, têm sido considerados eficientes na avaliação da poluição aquática por diversos autores (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009; BIANCHI et al., 2011; ALVIM et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SOBRAL et al., 2013). Ainda, alguns trabalhos com *A. cepa* têm sido desenvolvidos para avaliar o impacto ambiental provocado pelas indústrias de petróleo, desde o transporte até o refino do óleo e a produção de seus derivados (LEME; MARIN-MORALES, 2008; HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; RODRIGUES et al., 2010; MAZZEO et al., 2011).

Neste trabalho, embora poucos resultados significativos tenham sido obtidos pela exposição às amostras coletadas, o uso do controle positivo (CP) com uma solução de metilmetano sulfonato (MMS) comprovou a sensibilidade do bioindicador *A. cepa* aos danos mutagênicos.

Depois de obtidos os resultados citogenéticos, estes foram correlacionados com os dados meteorológicos e com os parâmetros físicos e químicos (tabelas 12 e 13), por meio do teste de correlação multifatorial canônica (CCa). Segundo Sparks et al. (1999), a análise de múltiplas variáveis pode ser utilizada para examinar a relação entre grupos de variáveis, que no presente

trabalho corresponderam aos dados biológicos, dados meteorológicos e dados físicos e químicos. Ainda de acordo com Sparks et al. (1999), a correlação canônica (CCa) pode ser vista como a equivalente multivariada das análises de regressão, onde existem múltiplas variáveis responsivas ao invés de uma única variável. Deste modo, este teste matemático tenta elucidar quais são as variáveis responsáveis sobre o outro grupo de variáveis. No caso deste estudo, pela CCa esperou-se tentar determinar quais são os fatores principais que influenciam as respostas biológicas.

Não houve correlação considerada como forte entre os dados biológicos e os dados meteorológicos, indicando que, para o sistema-teste de *A. cepa*, a pluviosidade e a temperatura não interferiram, conjuntamente com os demais parâmetros físicos e químicos, na fisiologia celular e tampouco no seu material genético. Sobre a correlação entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos, é possível observar que foram poucas as correlações consideradas como fortes (tabela 13). Pela análise desta tabela, podemos sugerir que os parâmetros cor aparente, sólidos sedimentáveis, matéria volátil e matéria fixa residual, e as concentrações de amônia, de nitrito, de sulfeto e de cianeto poderiam ter influência no desenvolvimento dos meristemas de cebola. Todos estes parâmetros parecem ter uma correlação positiva em relação aos dados biológicos, ou seja, quanto maiores forem estes em uma amostra de água, maiores poderão ser os danos causados ao organismo-teste, pelo menos em relação aos diferentes *endpoints* aqui avaliados. Por isso, é possível sugerir a aplicação segura da CCa apenas quando houver respostas biológicas significativas, afim de se tentar determinar quais os principais parâmetros indutores.

Deste modo, pelos resultados apresentados nas tabelas 8, 9, 10 e 11, podemos observar que o efluente não apresentou compostos com ação toxicogenéticas, portanto não comprometeu, genotoxicamente, a qualidade de água dos rios do entorno da refinaria.

#### 4. Conclusões

Este estudo foi baseado no biomonitoramento da qualidade de águas sob influência de uma refinaria de petróleo por meio de análises integradas de dados biológicos, físicos e químicos e meteorológicos, levantados durante 16 coletas realizadas entre 2009 e 2013.

Os dados biológicos foram obtidos a partir do organismo-teste *A. cepa*, que se mostrou sensível para ser usado em avaliação de contaminantes ambientais capazes de induzir danos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos na biota a eles exposta. Os dados meteorológicos permitiram verificar o regime climático da região e enquadrá-lo como um clima tropical de altitude, com períodos quentes e chuvosos e períodos frios e secos. Já os dados das análises físicas e químicas permitiram delinear o perfil das amostras de águas coletadas nos rios ou nos pontos localizados dentro de uma refinaria, durante o tratamento do efluente.

O teste de correlação utilizado neste estudo serviu como uma ferramenta adicional aos estudos ecogenotoxicológicos, que pouco exploram os fatores ambientais para considerar e interpretar as respostas dos bioindicadores utilizados. No presente trabalho a CCA talvez não tenha conseguido levantar a interação entre os diferentes parâmetros avaliados, pois foram observadas poucas alterações biológicas, o que impossibilitou uma aplicação robusta para este teste.

De acordo com os resultados aqui obtidos, a refinaria de petróleo de Paulínia/SP, Brasil, não parece estar comprometendo a qualidade das águas dos rios Jaguari e Atibaia, justamente pelo fato do tratamento realizado pela empresa estar mais adequado para a remoção de possíveis contaminantes gerados no processo de refino.

A etapa de tratamento realizado na lagoa de estabilização pode estar se caracterizando em uma etapa auxiliar de grande importância para remoção dos contaminantes do efluente da refinaria, pois deve estar havendo, neste processo, a decomposição, por uma biota microbiana endêmica desta lagoa, de contaminantes específicos desta atividade industrial. Isto pode ser comprovado pela ausência de HPAs no efluente da refinaria, uma vez que esses compostos estão estreitamente relacionados com a indústria e uso do petróleo.

No entanto, como os corpos hídricos estão sujeitos a alterações climáticas e atividades antrópicas, é recomendado o constante monitoramento da atividade desta indústria petroquímica.

Quanto a avaliação integrada entre os resultados dos ensaios realizados com *A. cepa*, associados aos parâmetros físicos e químicos da água e meteorológicos, novamente ressaltamos não haver, neste trabalho, evidências fortes de que esses parâmetros possam estar comprometendo, nem isoladamente nem em associação, a homeostase genética dos organismos quando estes se expuseram a água dos rios que estão sob a influência da refinaria de petróleo.

## 5. Referências bibliográficas

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. A.; BARBOSA, S. Evaluation of the cytogenotoxicity of textile effluents using *Allium cepa* L. **Ambi-Agua**, v. 6, n. 2, p. 255–265, 2011.

BARABASZ, W.; ALBINSKA, D.; JÁSKOWSKA, M.; LIPIEC, J. Ecotoxicology of Aluminium. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 11, n. 3, p. 199–203, 2002.

BERG, D.; GERLACH, M.; YODIM, M. B.; et al. Brain iron pathways and their relevance to Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 79, n. 2, p. 225–236, 2001.

BESSER, J. M.; BRUMBAUGH, W. G.; PAPOULIAS, D. M.; IVEY, C. D.; KUNZ, J. L.; ANNIS, M.; INGERSOLL, C. G. **Bioaccumulation and Toxicity of Selenium during a Life-**

**Cycle Exposure with Desert Pupfish (*Cyprinodon macularius*).** Scientific Investigations Reports 2012-5033. US Department of the Interior and US Geological Survey. 2012.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826–833, 2011.

BRIGGS, A. D.; GREENWOOD, N.; GRANT, A. Can turbidity caused by *Corophium volutator* (Pallas) activity be used to assess sediment toxicity rapidly? **Marine Environmental Pollution**, v. 55, n. 3, p. 181-192, 2003.

BRITO-PELEGRINI, N. N.; PELEGRINI, R. T.; PATERNIANI, J. E. S. Ecotoxicological evaluation of leachate from the Limeira sanitary landfill with a view to identifying acute toxicity. **Ambi-Agua**, v. 2, n. 3, p. 34-43, 2007.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722–725, 2008.

CETESB, **Águas superficiais – Variáveis de qualidade das águas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.** 2014. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas>. Acesso em 14/10/2014.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring - Second Edition.** 2nd ed. London: E&FN Spon - Chapman & Hall, 1996.

CONAMA. **Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente.** Brasília, DF, 2005.

CONAMA. **Resolução nº 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente.** Brasília, DF, 2011.

DE ANDRADE, V. M.; DE FREITAS, T. R. O.; SILVA, J. Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. **Mutation research**, v. 560, n. 1, p. 57–67, 2004.

EL-NAAS, M. H.; ALHAIJA, M. A.; AL-ZUHAIR, S. Evaluation of a three-step process for the treatment of petroleum refinery wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 56–62, 2014.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090–2095, 2009.

JOMOVA, K.; JENISOVA, Z.; FESZTEROVA, M.; et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, p. 95-107, 2011.

LEAL, F. C. T.; LIBÂNIO, M. Estudo da remoção da cor por coagulação química no tratamento convencional de águas de abastecimento. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 7, n. 3-4, p. 117–128, 2002.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214–219, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—A case study. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 650, n. 1, p. 80–86, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LIMA, P.; VASCONCELLOS, M.; MONTENEGRO, R.; et al. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 10, p. 1435–1444, 2011.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips, **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, 148-158, 2006.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; MARIN-MORALES, M. A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process. **Chemosphere**, v. 85, n. 1, p. 13–18, 2011.

MIRANDA, M. J.; PINTO, H. S.; ZULLO JÚNIOR, J.; FAGUNDES, R. M.; FONSECHI, D. B.; CALVE, L.; PELLEGRINO, G. Q. **Clima dos municípios paulistas: A classificação climática de Koeppen para o Estado de São Paulo. CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura – UNICAMP.** Disponível em <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>. Acesso em 14/10/2014. 2014.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N. D.; BOEIRA, J. M. Genotoxicidade e Análises Físico-Químicas das águas do Rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15–22, 2012.

OLUKANNI, D. O.; DUCOSTE, J. J. Optimization of waste stabilization pond design for developing nations using computational fluid dynamics. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 11, p. 1878-1888, 2011.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, v. 418, n. 2-3, p. 113-119, 1998.

RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V.; et al. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 5, p. 1228–1233, 2010.

RODRIGUES, F. P.; ANGELI, J. P. F.; MANTOVANI, M. S.; GUEDES, C. L. B.; JORDÃO, B. Q. Genotoxic evaluation of an industrial effluent from an oil refinery using plant and animal bioassays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, n. 1, p. 169–175, 2010.

SOBRAL, O.; MARIN-MORALES, M. A.; RIBEIRO, R. Could contaminant induced mutations lead to a genetic diversity overestimation? **Ecotoxicology**, v. 22, n. 5, p. 838–846, 2013.

SPARKS, T. H.; SCOTT, W. A.; CLARKE, R. T. Traditional multivariate techniques: Potential for use in ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 128–137, 1999.

VAN HILLE, R. P.; A PETERSON, K.; LEWIS, A. E. Copper sulphide precipitation in a fluidised bed reactor. **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 10, p. 2571–2578, 2005.

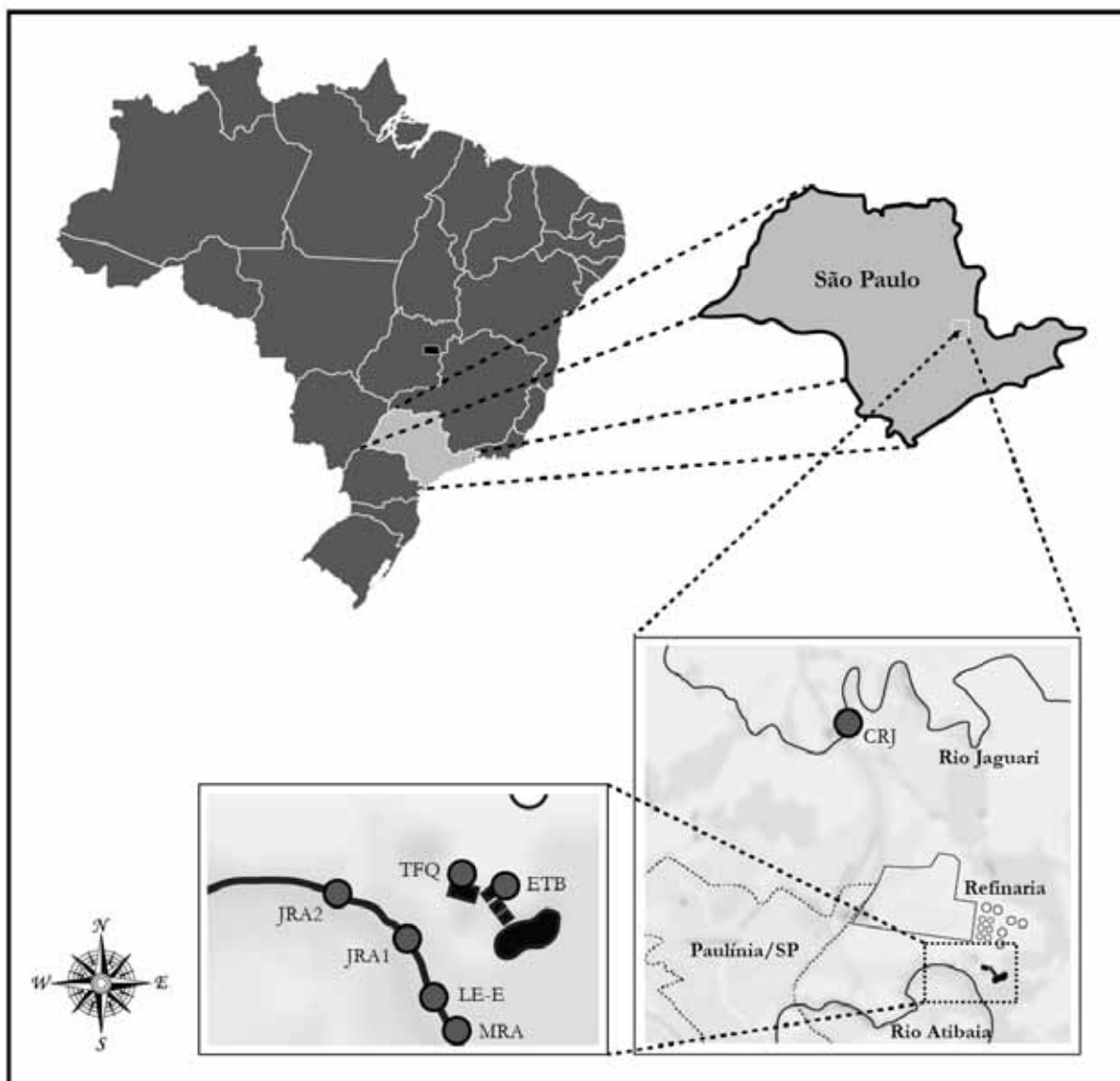
WEBER-SCANNEL, P. K.; DUFFY, L. K. Effects of Total Dissolved Solids on Aquatic Organisms: A Review of Literature and Recommendation for Salmonid Species. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2007.

WRIGHT, J. A.; YANG, H.; WALKER, K.; et al. The H<sub>2</sub>S test versus standard indicator bacteria tests for faecal contamination of water: systematic review and meta-analysis. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 17, n. 1, p. 94–105, 2012.

ŽEGURA, B.; HEATH, E.; ČERNOŠA, A.; FILIPIČ, M. Combination of *in vitro* bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. **Chemosphere**, v. 75, p. 1453–1460, 2009.



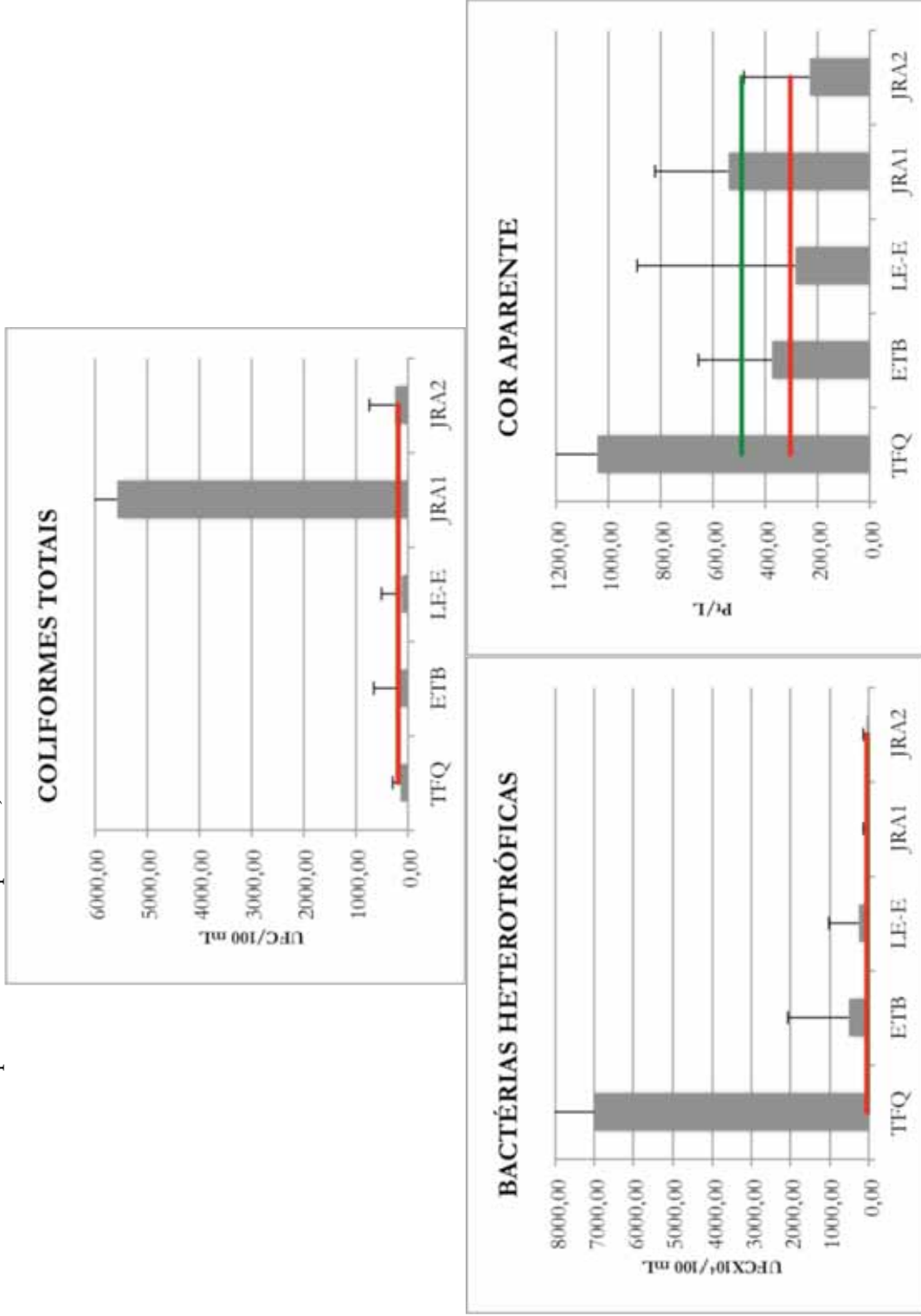
**Figura 1** – Esquema da localização da refinaria de petróleo de Paulínia/SP e dos pontos em seu entorno e em seu interior.



**Fonte:** elaborado pelo autor.

CRJ: área de captação de água da refinaria no rio Jaguari; MRA: área a 200 metros a montante do rio Atibaia; LE-E: saída da lagoa de estabilização (efluente tratado da refinaria); JRA1: área do rio Atibaia a 300 metros a jusante do local de despejo do efluente; JRA2: área do rio Atibaia a 800 metros a jusante do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico e entrada do tratamento biológico; ETB: saída da estação de tratamento biológico e entrada da lagoa de estabilização.

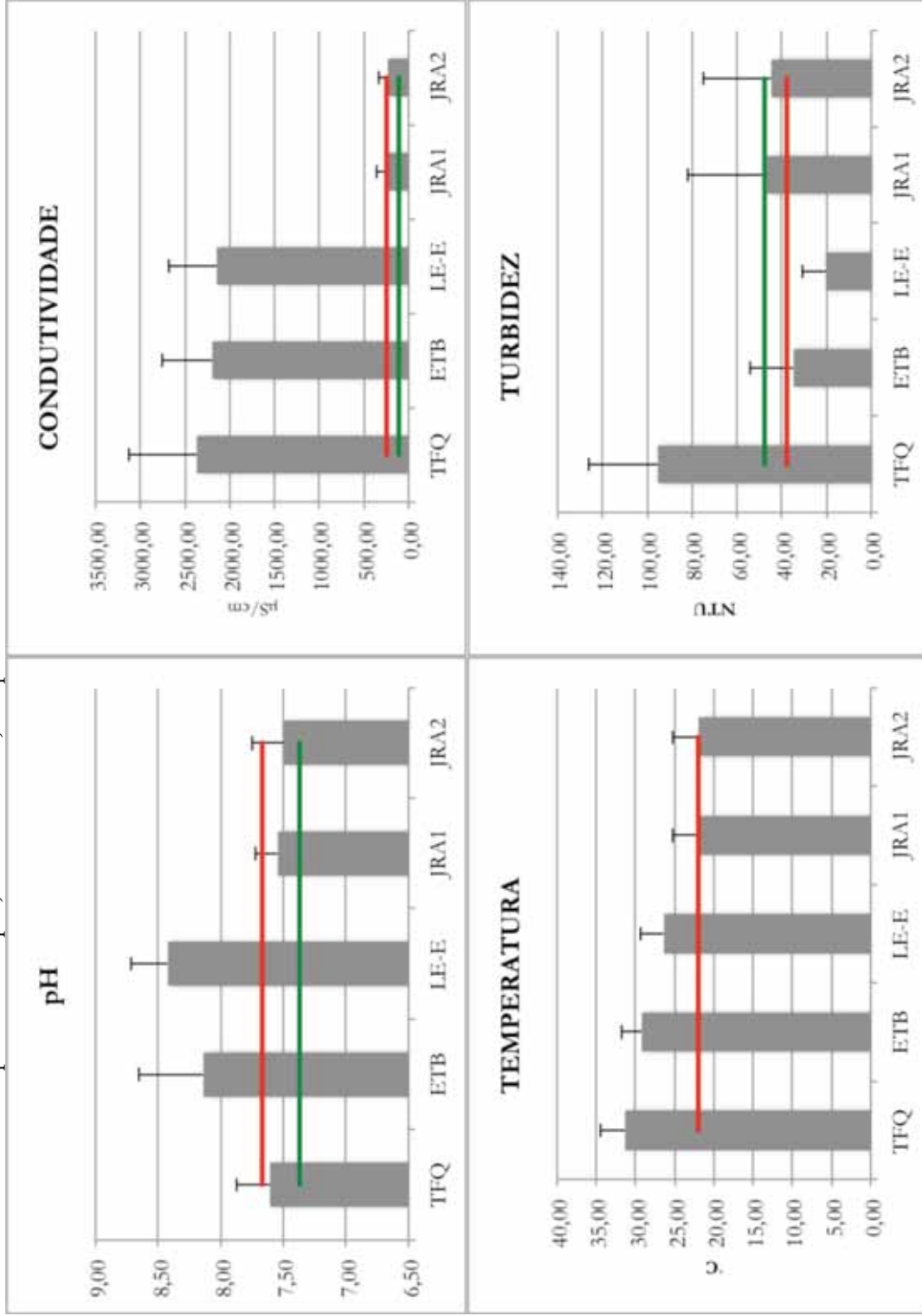
**Figura 2** – Gráficos das médias dos parâmetros: cor aparente, coliformes totais e bactérias heterotróficas.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguarí; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

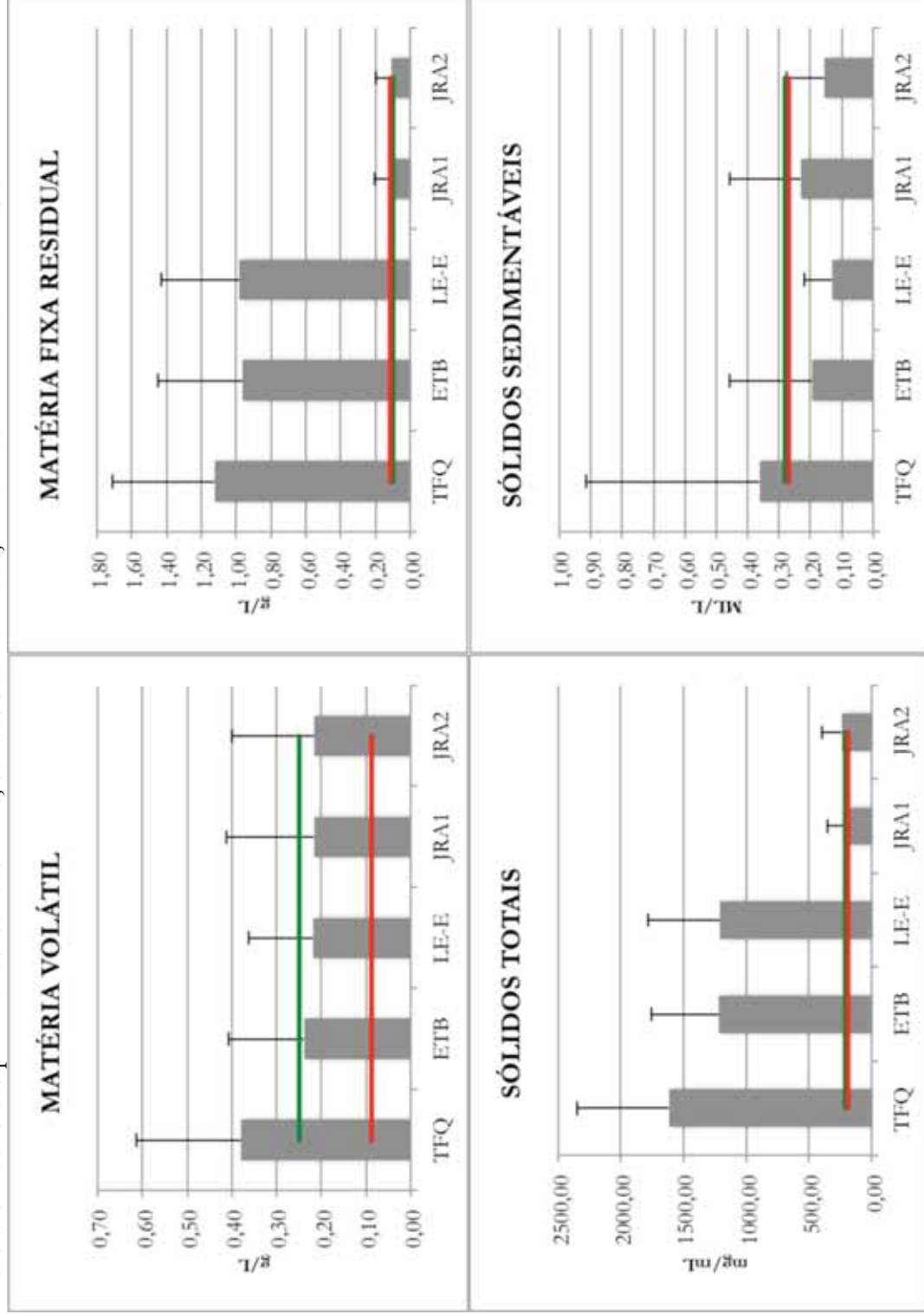
**Figura 3** – Gráficos das médias dos parâmetros: pH, condutividade, temperatura e turbidez.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguari; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

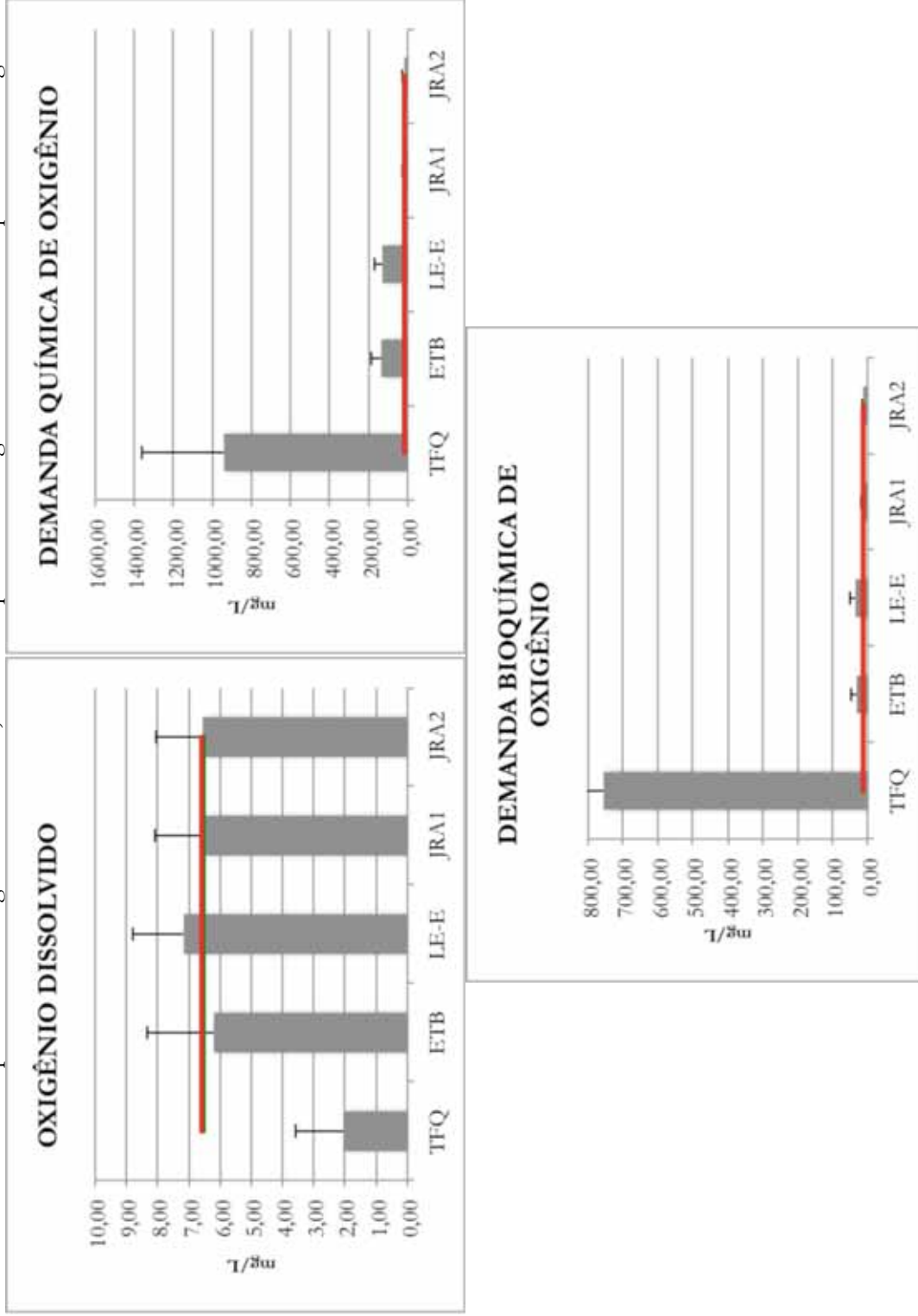
**Figura 4** – Gráficos das médias dos parâmetros: sólidos totais, sólidos sedimentáveis, matéria volátil e matéria fixa residual.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguari; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

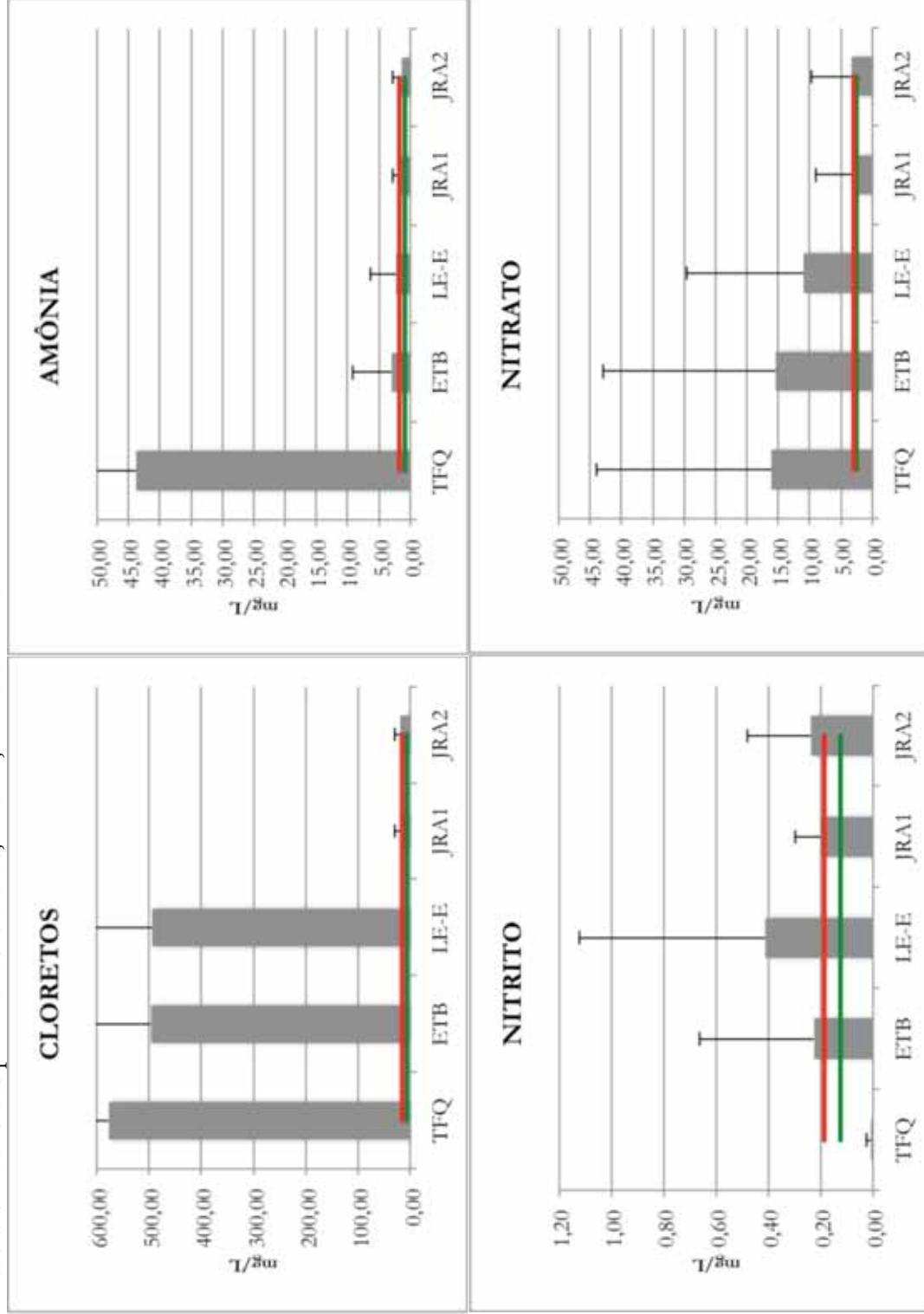
**Figura 5** – Gráficos das médias dos parâmetros: oxigênio dissolvido, demanda química de oxigênio e demanda bioquímica de oxigênio.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguarí; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

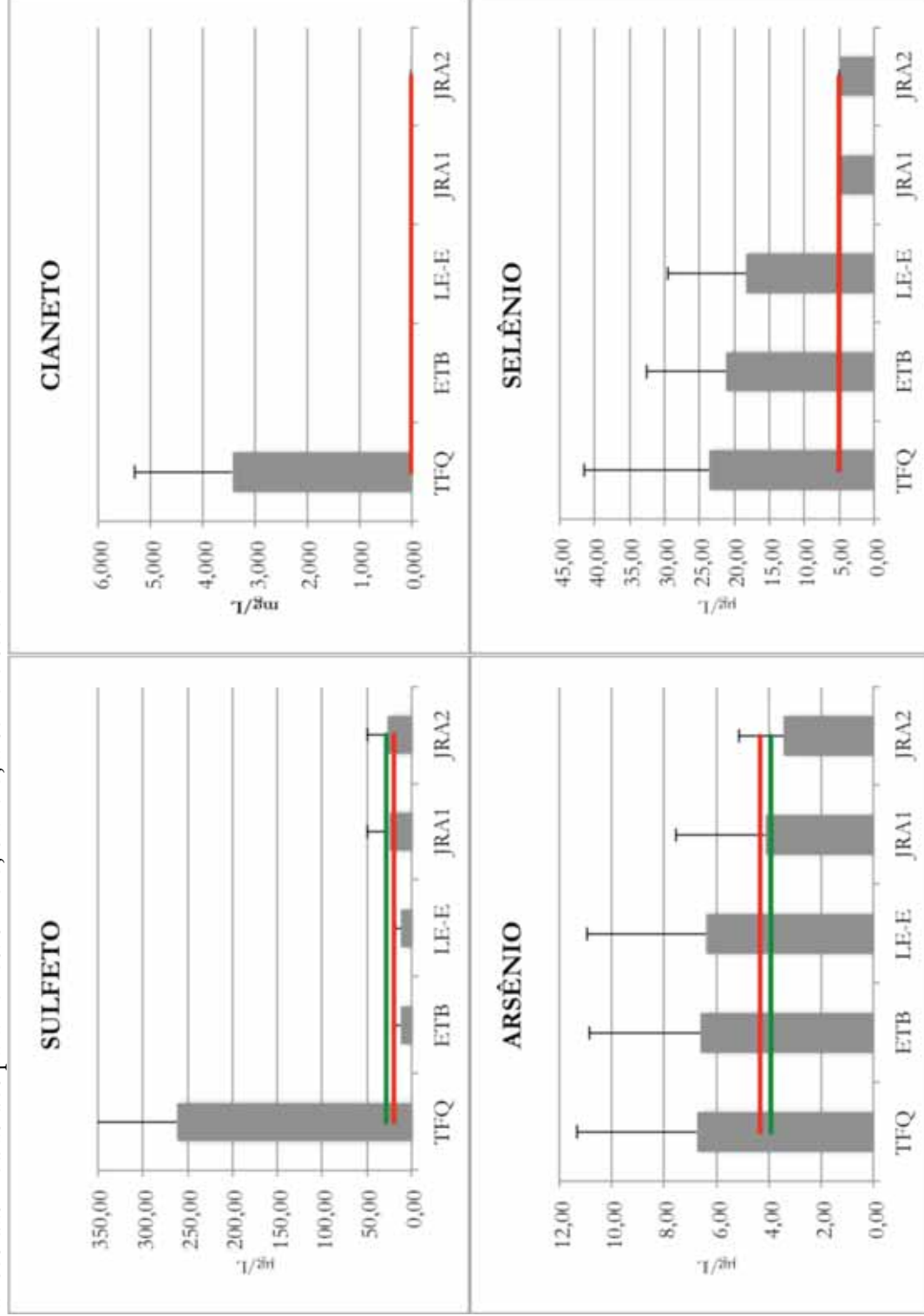
**Figura 6** – Gráficos das médias dos parâmetros: cloretos, amônia, nitrito e nitrato.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguari; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

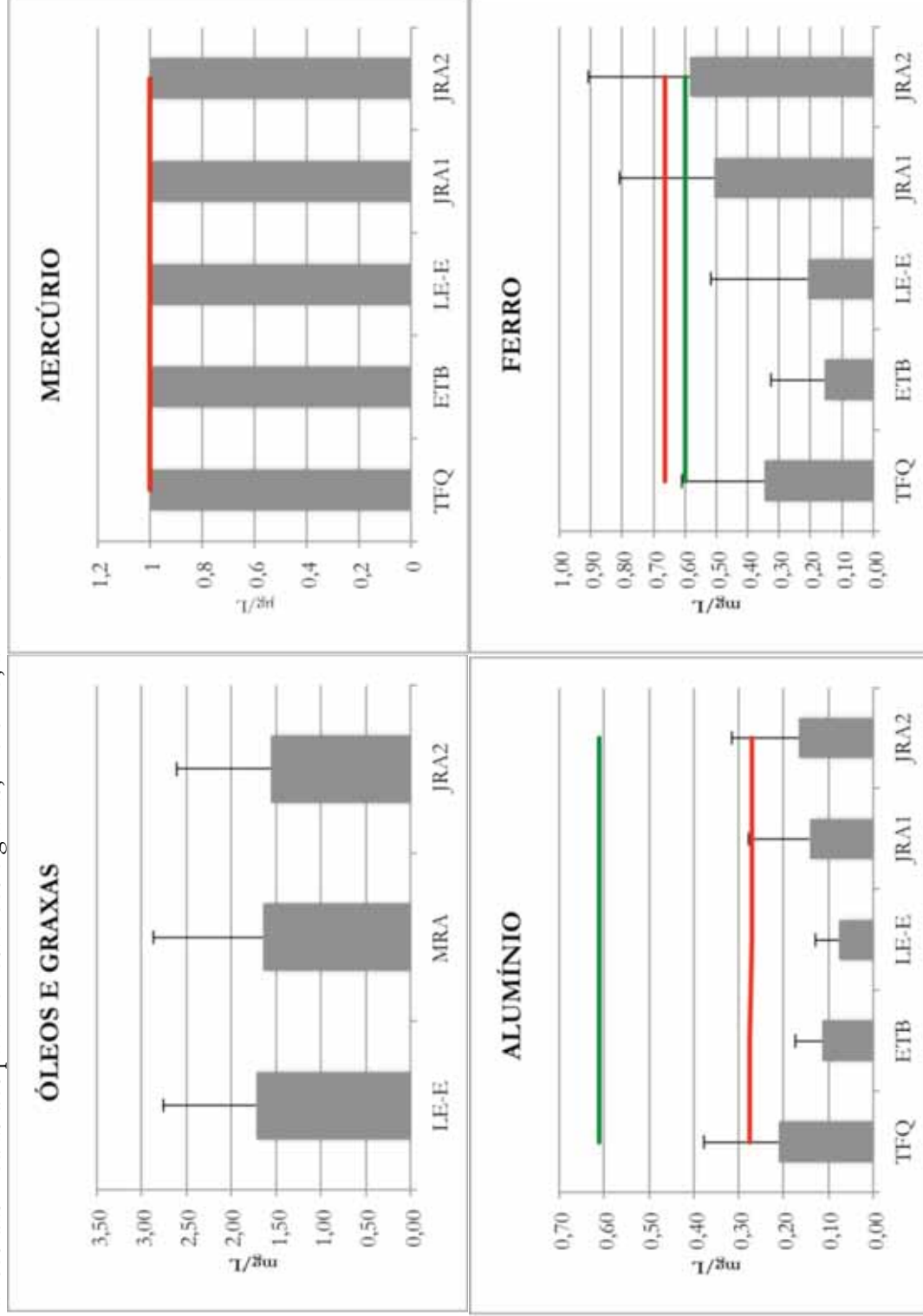
**Figura 7** – Gráficos das médias dos parâmetros: sulfeto, cianeto, arsênio e selênio.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguari; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

**Figura 8** – Gráficos das médias dos parâmetros: óleos e graxas, mercúrio, alumínio e ferro.



**Fonte: elaborado pelo autor.**

Linha verde: CRJ; linha vermelha: MRA. CRJ: captação no rio Jaguari; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.



**Tabela 1** – Dados pluviométricos referentes às datas de coleta das amostras de água e de efluente da refinaria.

Estação	Dia da coleta	Mês	Ano	Última precipitação	Quantidade (mm)	Média (15 dias - mm)	Acumulado (15 dias - mm)	Máxima precipitação (mm)	Mínima precipitação (mm)
Primavera	21	Outubro	2009	20/10/2009	6,50	6,80	61,20	23,30	0,00
Verão	10	Fevereiro	2010	07/02/2010	0,40	10,61	159,10	45,70	0,00
Outono	10	Maior	2010	09/05/2010	16,80	3,93	58,90	39,40	0,00
Inverno	02	Agosto	2010	16/07/2010	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Primavera	25	Outubro	2010	24/10/2010	0,90	0,50	7,50	3,10	0,00
Verão	14	Março	2011	13/03/2011	34,30	13,84	179,90	34,60	0,00
Outono	09	Maior	2011	03/05/2011	0,10	4,21	63,20	53,50	0,00
Inverno	04	Julho	2011	18/06/2011	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
Primavera	05	Dezembro	2011	02/12/2011	1,60	5,69	85,30	45,20	0,00
Verão	30	Janeiro	2012	28/01/2012	25,80	16,45	246,80	67,80	0,00
Outono	17	Abril	2012	16/04/2012	11,60	1,85	27,80	11,60	0,00
Inverno	25	Julho	2012	21/07/2012	0,20	3,09	46,40	30,40	0,00
Primavera	23	Outubro	2012	22/10/2012	0,20	10,45	156,80	43,90	0,00
Verão	01	Fevereiro	2013	31/01/2013	22,00	5,12	76,80	25,90	0,00
Outono	17	Maior	2013	14/04/2013	4,70	0,00	0,00	0,00	0,00
Inverno	27	Agosto	2013	19/08/2013	0,30	0,05	0,70	0,40	0,00

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Dados fornecidos pelo CEAPLA/IGCE/UNESP.

**Tabela 2 – Registros de temperatura referentes às datas de coleta das amostras de água e de efluente da refinaria.**

Estação	Dia da coleta	Mês	Ano	Última precipitação	Temperatura na coleta (°C)	Temperatura Média (15 dias - °C)		Média (°C)	
						Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
Primavera	21	Outubro	2009	20/10/2009	26,33	22,66±2,49	16,29±2,15	27,71±3,40	
Verão	10	Fevereiro	2010	07/02/2010	23,57	26,41±2,38	20,13±0,74	31,25±3,86	
Outono	10	Maio	2010	09/05/2010	17,70	22,73±2,76	15,11±2,25	28,41±3,05	
Inverno	02	Agosto	2010	16/07/2010	21,67	22,24±1,41	12,61±1,94	28,64±1,72	
Primavera	25	Outubro	2010	24/10/2010	23,13	23,64±2,84	14,59±3,35	30,27±3,53	
Verão	14	Março	2011	13/03/2011	23,87	21,68±1,70	19,24±0,83	25,53±3,65	
Outono	09	Maio	2011	03/05/2011	19,44	18,91±1,44	13,89±2,49	25,92±2,88	
Inverno	04	Julho	2011	18/06/2011	14,72	16,82±2,95	9,75±3,51	26,14±3,30	
Primavera	05	Dezembro	2011	02/12/2011	23,61	22,74±1,27	16,77±1,82	30,12±1,63	
Verão	30	Janeiro	2012	28/01/2012	21,60	21,40±1,24	17,70±1,80	27,97±2,70	
Outono	17	Abril	2012	16/04/2012	21,31	23,37±0,96	18,06±1,30	30,62±1,56	
Inverno	25	Julho	2012	21/07/2012	20,87	15,72±3,18	9,23±4,13	24,55±4,35	
Primavera	23	Outubro	2012	22/10/2012	22,91	22,55±2,35	16,76±1,91	29,91±4,06	
Verão	01	Fevereiro	2013	31/01/2013	23,76	23,39±0,87	18,83±1,90	29,88±1,37	
Outono	17	Maio	2013	14/04/2013	20,58	19,03±2,61	11,99±4,05	27,92±2,72	
Inverno	27	Agosto	2013	19/08/2013	13,90	17,84±2,98	10,48±2,83	26,50±4,21	

**Fonte: elaborado pelo autor.**

Dados fornecidos pelo CEAPLA/IGCE/UNESP.

**Tabela 3 - Número de coletas cujos resultados das análises físicas e químicas excederam os limites permitidos pela legislação vigente, determinado pelo CONAMA.**

Parâmetros	V.M.P.											
	Pontos de Coleta: no. de coletas com índices alterados/total analisado											
	357/2005		430/2011		CRJ	MRA	TFQ	ETB	LE-E	JRA1	JRA2	
Classe II	Classe IV											
pH	6-9	6-9	5-9	0/16	0/16	0/16	2/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	100,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>	9/16	15/16	16/16	16/16	16/16	16/16	16/16	15/16	
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	-	-	40,00	***	***	***	***	0/16	0/16	***	***	
Turbidez (NTU)	100,00	100,00	-	3/16	1/16	6/16 <sup>+</sup>	0/16 <sup>+</sup>	0/16 <sup>+</sup>	0/16 <sup>+</sup>	1/16	1/16	
Transparência (cm)	-	-	-	**	***	**	**	**	**	***	***	
Cor Aparente (mg Pt/L)	75,00	75,00	-	12/16	14/16	16/16 <sup>+</sup>	16/16 <sup>+</sup>	16/16 <sup>+</sup>	16/16 <sup>+</sup>	14/16	14/16	
Sólidos Totais (mg/L)	500,00	500,00	-	1/16	0/16	14/16 <sup>+</sup>	13/16 <sup>+</sup>	13/16 <sup>+</sup>	13/16 <sup>+</sup>	0/16	1/16	
Sólidos Sedimentáveis (mL/L)	-	-	1,00	1/16 <sup>++</sup>	2/16 <sup>++</sup>	2/16	1/16	1/16	0/16	0/16 <sup>++</sup>	0/16 <sup>++</sup>	
Matéria Volátil (g/L)	-	-	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
Matéria Fixa Residual (g/L)	-	-	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	>5,00	>2,00	>2,00 <sup>+</sup>	4/16	0/16	9/16 <sup>+</sup>	1/16 <sup>+</sup>	0/16 <sup>+</sup>	0/16 <sup>+</sup>	0/16	0/16	
Dem. Química de Oxigênio (mg/L)	-	-	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
Dem. Bioquímica de Oxigênio (mg/L)	5,00	10,00	Recuperação $\geq 60\%$	14/16	11/16	***	***	0/16	0/16	10/16	9/16	
Coliformes totais (UFC/100 mL)	-	-	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
Bact. Heter. (UFC x 10 <sup>4</sup> /100 mL)	-	-	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
Cloro (mg/L)	250,00	250,00	250,00	0/16	0/16	16/16	16/16	15/16	15/16	0/16	0/16	
Amônia (mg/L)	*	*	20,00	0/16	1/16	16/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Nitrato (mg/L)	1,00	1,00	-	0/16	0/16	***	***	***	***	0/16	1/16	
Nitrato (mg/L)	10,00	10,00	-	1/16	1/16	***	***	***	***	1/16	1/16	
Sulfeto ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	2,00	300,00	1000,00	12/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Óleos e graxas (mg/L)	ausente	tolerada	20,00	**	0/16 <sup>++</sup>	**	**	0/16	0/16	**	0/16 <sup>++</sup>	
Cianeto (mg/L)	0,005	0,022	1,00	7/16	0/16	16/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Arsênio ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	10,00	330,0	500,00	1/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Selênio ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	10,00	50,00	300,00	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Mercurio ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	0,20	2,00	10,00	***	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	
Al (mg/L)	0,10	0,20	-	9/16	6/16	8/16 <sup>++</sup>	3/16 <sup>++</sup>	0/16 <sup>++</sup>	0/16 <sup>++</sup>	4/16	6/16	
Fe (mg/L)	0,30	5,00	15,00	12/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CRJ: captação no rio Jaguari; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

V.M.P.: valor máximo permitido; bact.: bactérias heterotróficas; a: valor recomendado pela CETESB; \* valor máximo permitido dependente do pH; \*\* análise não realizada; \*\*\* valor máximo permitido não determinado pela legislação, \*\*\*\* valor mínimo de detecção acima do valor máximo permitido; + valor máximo com referência na legislação para águas superficiais; ++ valor máximo com referência na legislação para efluentes.

**Tabela 4** – Frequências de células em divisão (Índice mitótico - I.M.), obtidas de meristemas de *Alium cepa* expostos às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CP	CRJ	TFQ	ETB	LE-E
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	34,31 ± 8,99	40,83 ± 7,87	38,99 ± 7,74	29,59 ± 10,53	<b>40,39</b> ± 3,29 <sup>TFQ</sup>	37,83 ± 4,59
2010	Verão	21,52 ± 6,66	25,80 ± 11,06	25,75 ± 10,28	18,39 ± 3,67	24,04 ± 11,30	27,71 ± 11,79
2010	Outono	28,39 ± 11,91	24,02 ± 12,92	30,34 ± 14,01	22,72 ± 12,50	32,73 ± 13,65	32,96 ± 13,11
2010	Inverno	43,48 ± 7,43	47,98 ± 7,55	52,42 ± 9,97	<b>55,02</b> ± 5,52*	50,58 ± 6,92	<b>54,15</b> ± 5,55*
2010	Primavera	50,13 ± 7,37	51,42 ± 5,62	53,70 ± 6,72	46,92 ± 5,66	42,76 ± 15,56	48,64 ± 5,73
2011	Verão	39,71 ± 6,51	45,26 ± 5,35	44,30 ± 6,62	45,90 ± 6,28	44,42 ± 4,61	<b>48,42</b> ± 5,75*
2011	Outono	51,76 ± 2,63	49,68 ± 5,12	47,56 ± 4,70	45,20 ± 6,33	51,29 ± 6,39	52,30 ± 3,65
2011	Inverno	29,91 ± 20,77	34,20 ± 22,34	32,01 ± 23,34	***	35,06 ± 28,09	31,21 ± 24,71
2011	Primavera	28,90 ± 8,34	32,92 ± 14,31	27,03 ± 7,13	35,44 ± 9,26	28,02 ± 11,13	32,09 ± 13,63
2012	Verão	27,85 ± 9,40	27,86 ± 8,25	32,73 ± 9,60	28,97 ± 13,22	32,97 ± 10,11	34,47 ± 9,74
2012	Outono	37,07 ± 13,23	36,50 ± 17,73	31,68 ± 16,36	32,35 ± 21,80	30,71 ± 16,61	41,74 ± 18,69
2012	Inverno	29,92 ± 13,79	31,38 ± 12,43	30,26 ± 14,55	32,52 ± 11,77	34,05 ± 12,57	33,86 ± 10,27
2012	Primavera	30,70 ± 10,30	25,85 ± 9,74	30,72 ± 9,36	30,24 ± 11,38	32,52 ± 12,33	32,16 ± 12,29
2013	Verão	35,77 ± 9,66	35,61 ± 14,08	34,60 ± 6,59	31,42 ± 10,34	34,49 ± 11,72	34,23 ± 6,90
2013	Outono	36,05 ± 7,77	28,77 ± 8,61	38,14 ± 15,34	33,66 ± 10,55	33,47 ± 7,70	33,24 ± 10,14
2013	Inverno	25,91 ± 7,20	32,02 ± 13,34	30,75 ± 9,80	33,55 ± 7,46	29,41 ± 8,36	29,35 ± 11,42

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 5** – Frequências de células em processo de morte celular, após a exposição de sementes de *Allium cepa* às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CP	CRJ	TFQ	ETB	LE-E
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2010	Verão	0,02 ± 0,06	0,04 ± 0,12	0,02 ± 0,06	0,07 ± 0,17	0,04 ± 0,12	0,09 ± 0,20
2010	Outono	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,13	0,07 ± 0,23	0,20 ± 0,32	0,02 ± 0,06	0,05 ± 0,15
2010	Inverno	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2010	Primavera	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Verão	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Outono	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Inverno	0,00 ± 0,00	<b>2,57 ± 3,57*</b>	0,00 ± 0,00	***	0,00 ± 0,00	0,22 ± 0,70
2011	Primavera	0,12 ± 0,37	0,84 ± 1,26	0,87 ± 1,45	0,73 ± 2,11	0,41 ± 1,17	0,43 ± 0,93
2012	Verão	0,09 ± 0,28	1,34 ± 3,74	0,00 ± 0,00	0,46 ± 1,26	0,22 ± 0,68	0,57 ± 1,82
2012	Outono	0,09 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,26 ± 0,82	1,84 ± 4,30	0,54 ± 1,40	0,06 ± 0,19
2012	Inverno	0,03 ± 0,10	0,52 ± 1,10	0,25 ± 0,61	1,60 ± 3,49	0,32 ± 0,67	0,00 ± 0,00
2012	Primavera	0,00 ± 0,00	5,74 ± 11,18	0,40 ± 1,07	0,79 ± 1,49	0,39 ± 0,98	0,20 ± 0,42
2013	Verão	0,00 ± 0,00	<b>0,42 ± 0,81*</b>	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,05	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2013	Outono	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2013	Inverno	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 6** – Frequências de células portadoras de aberrações cromossômicas (AC), após a exposição de sementes de *Allium cepa* às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CP	CRJ	TFQ	ETB	LE-E
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	0,31 ± 0,29	0,88 ± 0,69	0,25 ± 0,23	0,42 ± 0,36	0,18 ± 0,17	0,35 ± 0,43
2010	Verão	0,23 ± 0,18	0,59 ± 0,68	0,21 ± 0,17	0,22 ± 0,26	0,17 ± 0,25	0,40 ± 0,37
2010	Outono	0,30 ± 0,22	0,67 ± 0,53	0,26 ± 0,40	0,60 ± 0,67	0,42 ± 0,33	0,33 ± 0,16
2010	Inverno	0,22 ± 0,15	0,58 ± 0,51	0,33 ± 0,30	0,35 ± 0,15	0,33 ± 0,24	0,41 ± 0,25
2010	Primavera	0,17 ± 0,16	<b>0,75 ± 0,32*</b>	0,33 ± 0,30	0,31 ± 0,17	0,15 ± 0,15	0,11 ± 0,13
2011	Verão	0,15 ± 0,12	<b>1,09 ± 0,59*</b>	0,19 ± 0,20	<b>0,54 ± 0,19*</b>	<b>0,17 ± 0,14<sup>TFQ</sup></b>	0,30 ± 0,19
2011	Outono	0,25 ± 0,21	<b>1,62 ± 1,18*</b>	0,53 ± 0,58	0,48 ± 0,35	0,60 ± 0,48	0,21 ± 0,16
2011	Inverno	0,12 ± 0,25	<b>2,08 ± 1,19*</b>	0,49 ± 0,28	***	0,21 ± 0,22	0,42 ± 0,53
2011	Primavera	0,67 ± 1,00	1,40 ± 0,99	0,70 ± 0,89	0,77 ± 0,65	0,65 ± 0,54	1,01 ± 1,29
2012	Verão	0,07 ± 0,12	<b>0,79 ± 0,58*</b>	0,21 ± 0,28	0,33 ± 0,40	0,20 ± 0,37	0,57 ± 1,07
2012	Outono	0,27 ± 0,40	<b>2,30 ± 2,03*</b>	0,40 ± 0,58	0,38 ± 0,34	0,37 ± 0,43	0,29 ± 0,36
2012	Inverno	0,12 ± 0,18	0,60 ± 0,47	0,43 ± 0,30	0,31 ± 0,31	0,30 ± 0,27	0,17 ± 0,25
2012	Primavera	0,27 ± 0,24	0,91 ± 1,33	0,50 ± 0,26	0,82 ± 0,74	0,29 ± 0,18	0,34 ± 0,25
2013	Verão	0,15 ± 0,15	<b>1,58 ± 0,81*</b>	0,25 ± 0,23	0,34 ± 0,18	0,21 ± 0,25	0,46 ± 0,26
2013	Outono	0,08 ± 0,14	<b>1,14 ± 1,26*</b>	0,33 ± 0,33	0,41 ± 0,24	0,24 ± 0,29	0,33 ± 0,35
2013	Inverno	0,12 ± 0,14	<b>1,40 ± 0,70*</b>	0,51 ± 0,50	0,33 ± 0,37	0,15 ± 0,19	0,19 ± 0,24

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 7** – Frequências de células portadoras de micronúcleos (MN), após a exposição de sementes de *Allium cepa* às diferentes amostras coletadas durante o processo de tratamento da refinaria e no rio onde a empresa faz a sua captação.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CP	CRJ	TFQ	ETB	LE-E
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	0,06 ± 0,09	<b>2,07</b> ± <b>1,51</b> *	0,02 ± 0,06	0,19 ± 0,23	0,04 ± 0,13	0,53 ± 1,05
2010	Verão	0,11 ± 0,10	<b>2,03</b> ± <b>1,06</b> *	0,14 ± 0,19	0,22 ± 0,26	0,08 ± 0,10	0,13 ± 0,20
2010	Outono	0,42 ± 0,35	<b>3,66</b> ± <b>2,88</b> *	0,63 ± 0,88	0,55 ± 0,58	0,67 ± 0,50	0,46 ± 0,23
2010	Inverno	0,00 ± 0,00	<b>0,43</b> ± <b>0,24</b> *	0,10 ± 0,14	0,04 ± 0,12	0,10 ± 0,14	0,06 ± 0,13
2010	Primavera	0,02 ± 0,05	<b>0,69</b> ± <b>0,23</b> *	0,07 ± 0,09	0,10 ± 0,19	0,05 ± 0,12	0,00 ± 0,00
2011	Verão	0,04 ± 0,08	<b>1,09</b> ± <b>1,11</b> *	0,09 ± 0,13	0,31 ± 0,41	0,05 ± 0,09	0,04 ± 0,08
2011	Outono	0,13 ± 0,18	<b>2,49</b> ± <b>2,06</b> *	0,19 ± 0,26	0,30 ± 0,37	0,22 ± 0,44	0,28 ± 0,38
2011	Inverno	0,10 ± 0,17	<b>2,57</b> ± <b>3,30</b> *	0,71 ± 1,15	***	0,18 ± 0,20	0,50 ± 0,87
2011	Primavera	1,22 ± 0,89	3,74 ± 3,20	1,53 ± 0,87	1,82 ± 0,96	1,85 ± 0,86	2,50 ± 1,31
2012	Verão	0,22 ± 0,27	<b>3,16</b> ± <b>2,66</b> *	0,13 ± 0,20	0,25 ± 0,27	0,09 ± 0,19	0,06 ± 0,13
2012	Outono	0,02 ± 0,06	<b>7,79</b> ± <b>6,14</b> *	0,28 ± 0,41	0,08 ± 0,10	0,15 ± 0,17	0,10 ± 0,16
2012	Inverno	0,09 ± 0,13	<b>2,31</b> ± <b>2,25</b> *	0,06 ± 0,13	0,15 ± 0,21	0,02 ± 0,06	0,11 ± 0,19
2012	Primavera	0,04 ± 0,08	<b>2,52</b> ± <b>4,72</b> *	0,10 ± 0,10	0,11 ± 0,20	0,11 ± 0,10	0,15 ± 0,15
2013	Verão	0,06 ± 0,09	<b>2,87</b> ± <b>1,05</b> *	0,07 ± 0,13	0,02 ± 0,06	0,04 ± 0,08	0,09 ± 0,23
2013	Outono	0,00 ± 0,00	<b>2,11</b> ± <b>0,99</b> *	0,02 ± 0,06	0,08 ± 0,20	0,06 ± 0,12	0,02 ± 0,06
2013	Inverno	0,08 ± 0,14	<b>5,90</b> ± <b>3,46</b> *	0,11 ± 0,22	0,21 ± 0,26	0,04 ± 0,08	0,02 ± 0,06

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 8** – Frequências de células em processo de divisão celular (Índice mitótico - I.M.), após a exposição de sementes de *Allium cepa* ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CRJ	LE-E	MRA	JRA1	JRA2
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	34,31 ± 8,99	38,99 ± 7,74	37,83 ± 4,59	37,16 ± 6,41	41,18 ± 6,43	36,00 ± 3,32
2010	Verão	21,52 ± 6,66	25,75 ± 10,28	27,71 ± 11,79	24,96 ± 12,05	23,66 ± 6,49	21,87 ± 9,00
2010	Outono	28,39 ± 11,91	30,34 ± 14,01	32,96 ± 13,11	31,58 ± 11,01	34,07 ± 11,80	33,43 ± 12,33
2010	Inverno	43,48 ± 7,43	52,42 ± 9,97	<b>54,15 ± 5,55*</b>	<b>58,21 ± 4,00*</b>	53,77 ± 5,55	53,13 ± 6,81
2010	Primavera	50,13 ± 7,37	53,70 ± 6,72	48,64 ± 5,73	48,43 ± 5,40	48,55 ± 8,03	47,46 ± 6,87
2011	Verão	39,71 ± 6,51	44,30 ± 6,62	<b>48,42 ± 5,75*</b>	<b>50,03 ± 6,49*</b>	<b>55,58 ± 4,52*<sub>CRJ</sub></b>	<b>45,24 ± 5,48<sup>JRA1</sup></b>
2011	Outono	51,76 ± 2,63	47,56 ± 4,70	52,30 ± 3,65	48,87 ± 6,60	48,92 ± 5,08	47,27 ± 4,23
2011	Inverno	29,91 ± 20,77	32,01 ± 23,34	31,21 ± 24,71	25,69 ± 18,62	29,62 ± 20,23	33,74 ± 19,53
2011	Primavera	28,90 ± 8,34	27,03 ± 7,13	32,09 ± 13,63	30,52 ± 10,58	31,94 ± 8,54	35,81 ± 13,32
2012	Verão	27,85 ± 9,40	32,73 ± 9,60	34,47 ± 9,74	32,62 ± 11,55	33,05 ± 12,13	33,38 ± 9,28
2012	Outono	37,07 ± 13,23	31,68 ± 16,36	41,74 ± 18,69	39,34 ± 21,40	36,81 ± 15,36	34,91 ± 22,52
2012	Inverno	29,92 ± 13,79	30,26 ± 14,55	33,86 ± 10,27	30,88 ± 11,97	32,03 ± 14,00	34,77 ± 14,32
2012	Primavera	30,70 ± 10,30	30,72 ± 9,36	32,16 ± 12,29	31,57 ± 10,54	33,86 ± 13,55	34,71 ± 10,71
2013	Verão	35,77 ± 9,66	34,60 ± 6,59	34,23 ± 6,90	35,01 ± 8,40	34,72 ± 8,68	36,07 ± 8,72
2013	Outono	36,05 ± 7,77	38,14 ± 15,34	33,24 ± 10,14	34,04 ± 6,77	31,18 ± 9,42	35,35 ± 7,42
2013	Inverno	25,91 ± 7,20	30,75 ± 9,80	29,35 ± 11,42	29,53 ± 10,73	26,96 ± 7,42	32,38 ± 9,19

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFC, ETB, LE-E significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.



**Tabela 9** – Frequências de células em morte celular, após a exposição de sementes de *Allium cepa* ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa.

Ano	Estação	Amostras					
		CN	CRJ	LE-E	MRA	JRA1	JRA2
		Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)	Média±DP (%)
2009	Primavera	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2010	Verão	0,02 ± 0,06	0,02 ± 0,06	0,09 ± 0,20	0,06 ± 0,13	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,25
2010	Outono	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,23	0,05 ± 0,15	0,19 ± 0,42	0,10 ± 0,31	0,10 ± 0,28
2010	Inverno	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2010	Primavera	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Verão	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Outono	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2011	Inverno	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,22 ± 0,70	0,19 ± 0,42	0,10 ± 0,30	0,00 ± 0,00
2011	Primavera	0,12 ± 0,37	0,87 ± 1,45	0,43 ± 0,93	0,43 ± 0,96	0,31 ± 0,54	0,35 ± 0,75
2012	Verão	0,09 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,57 ± 1,82	0,47 ± 1,50	0,10 ± 0,32	0,17 ± 0,54
2012	Outono	0,09 ± 0,28	0,26 ± 0,82	0,06 ± 0,19	0,50 ± 1,06	0,19 ± 0,60	0,12 ± 0,25
2012	Inverno	0,03 ± 0,10	0,25 ± 0,61	0,00 ± 0,00	0,27 ± 0,69	0,73 ± 1,67	0,31 ± 0,50
2012	Primavera	0,00 ± 0,00	0,40 ± 1,07	0,20 ± 0,42	0,78 ± 1,47	0,11 ± 0,25	0,49 ± 1,04
2013	Verão	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2013	Outono	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2013	Inverno	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,43	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguarí; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 10** – Frequências de células portadoras de aberrações cromossômicas (AC), após a exposição de sementes de *Allium cepa* ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa.

Ano	Estação	Amostras					
		CN Média±DP (%)	CRJ Média±DP (%)	LE-E Média±DP (%)	MRA Média±DP (%)	JRA1 Média±DP (%)	JRA2 Média±DP (%)
2009	Primavera	0,31 ± 0,29	0,25 ± 0,23	0,35 ± 0,43	0,69 ± 0,54	0,23 ± 0,31	0,76 ± 0,72
2010	Verão	0,23 ± 0,18	0,21 ± 0,17	0,40 ± 0,37	0,17 ± 0,23	0,30 ± 0,28	0,69 ± 0,55
2010	Outono	0,30 ± 0,22	0,26 ± 0,40	0,33 ± 0,16	0,40 ± 0,34	0,42 ± 0,49	1,00 ± 0,71
2010	Inverno	0,22 ± 0,15	0,33 ± 0,30	0,41 ± 0,25	0,21 ± 0,19	0,36 ± 0,26	0,21 ± 0,23
2010	Primavera	0,17 ± 0,16	0,33 ± 0,30	0,11 ± 0,13	0,23 ± 0,19	0,09 ± 0,13	0,19 ± 0,23
2011	Verão	0,15 ± 0,12	0,19 ± 0,20	0,30 ± 0,19	0,37 ± 0,20	0,18 ± 0,21	0,24 ± 0,21
2011	Outono	0,25 ± 0,21	0,53 ± 0,58	0,21 ± 0,16	0,36 ± 0,39	0,26 ± 0,22	0,43 ± 0,26
2011	Inverno	0,12 ± 0,25	0,49 ± 0,28	0,42 ± 0,53	0,33 ± 0,28	0,48 ± 0,60	0,31 ± 0,28
2011	Primavera	0,67 ± 1,00	0,70 ± 0,89	1,01 ± 1,29	0,56 ± 0,47	0,78 ± 0,93	0,54 ± 0,43
2012	Verão	0,07 ± 0,12	0,21 ± 0,28	0,57 ± 1,07	0,37 ± 0,56	0,45 ± 0,44	0,34 ± 0,52
2012	Outono	0,27 ± 0,40	0,40 ± 0,58	0,29 ± 0,36	0,30 ± 0,32	0,21 ± 0,22	0,52 ± 0,38
2012	Inverno	0,12 ± 0,18	0,43 ± 0,30	0,17 ± 0,25	0,04 ± 0,08	0,34 ± 0,36	0,27 ± 0,32
2012	Primavera	0,27 ± 0,24	0,50 ± 0,26	0,34 ± 0,25	0,21 ± 0,19	0,55 ± 0,33	0,45 ± 0,72
2013	Verão	0,15 ± 0,15	0,25 ± 0,23	0,46 ± 0,26	0,28 ± 0,29	0,45 ± 0,33	0,42 ± 0,28
2013	Outono	0,08 ± 0,14	0,33 ± 0,33	0,33 ± 0,35	0,37 ± 0,55	0,38 ± 0,46	0,51 ± 0,50
2013	Inverno	0,12 ± 0,14	0,51 ± 0,50	0,19 ± 0,24	0,27 ± 0,30	0,22 ± 0,17	0,17 ± 0,25

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 11** – Frequências de células portadoras de micronúcleos (MN), após a exposição de sementes de *Allium cepa* ao efluente da refinaria e nas diferentes amostras coletadas nos rios do entorno da empresa.

Ano	Estação	Amostras					
		CN Média±DP (%)	CRJ Média±DP (%)	LE-E Média±DP (%)	MRA Média±DP (%)	JRA1 Média±DP (%)	JRA2 Média±DP (%)
2009	Primavera	0,06 ± 0,09	0,02 ± 0,06	0,53 ± 1,05	0,02 ± 0,06	0,10 ± 0,14	0,30 ± 0,47
2010	Verão	0,11 ± 0,10	0,14 ± 0,19	0,13 ± 0,20	0,21 ± 0,42	0,04 ± 0,13	0,15 ± 0,18
2010	Outono	0,42 ± 0,35	0,63 ± 0,88	0,46 ± 0,23	0,66 ± 0,48	0,47 ± 0,41	1,71 ± 1,78
2010	Inverno	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,14	0,06 ± 0,13	0,27 ± 0,47	0,12 ± 0,31	0,10 ± 0,13
2010	Primavera	0,02 ± 0,05	0,07 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,08	0,02 ± 0,06	0,07 ± 0,13
2011	Verão	0,04 ± 0,08	0,09 ± 0,13	0,04 ± 0,08	0,05 ± 0,11	0,05 ± 0,09	0,02 ± 0,06
2011	Outono	0,13 ± 0,18	0,19 ± 0,26	0,28 ± 0,38	0,16 ± 0,23	0,27 ± 0,28	0,32 ± 0,24
2011	Inverno	0,10 ± 0,17	0,71 ± 1,15	0,50 ± 0,87	0,21 ± 0,22	0,29 ± 0,26	0,12 ± 0,19
2011	Primavera	1,22 ± 0,89	1,53 ± 0,87	2,50 ± 1,31	2,26 ± 1,74	2,91 ± 2,05	0,99 ± 0,89
2012	Verão	0,22 ± 0,27	0,13 ± 0,20	0,06 ± 0,13	0,11 ± 0,13	0,22 ± 0,37	0,21 ± 0,19
2012	Outono	0,02 ± 0,06	0,28 ± 0,41	0,10 ± 0,16	0,11 ± 0,16	0,06 ± 0,19	0,07 ± 0,09
2012	Inverno	0,09 ± 0,13	0,06 ± 0,13	0,11 ± 0,19	0,04 ± 0,08	0,06 ± 0,13	0,02 ± 0,06
2012	Primavera	0,04 ± 0,08	0,10 ± 0,10	0,15 ± 0,15	0,23 ± 0,34	0,15 ± 0,19	0,04 ± 0,08
2013	Verão	0,06 ± 0,09	0,07 ± 0,13	0,09 ± 0,23	0,09 ± 0,10	0,02 ± 0,06	0,06 ± 0,09
2013	Outono	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,02 ± 0,06	0,02 ± 0,06	0,05 ± 0,16	0,08 ± 0,14
2013	Inverno	0,08 ± 0,14	0,11 ± 0,22	0,02 ± 0,06	0,47 ± 0,39	0,33 ± 0,42	0,04 ± 0,08

**Fonte: elaborado pelo autor.**

CN: controle negativo; CP: controle positivo; CRJ: captação no rio Jaguarí; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente.

\* significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com o CN.

CRJ, TFQ, ETB, LE-E: significativo –  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis), comparando-se com a amostra identificada.

\*\*\* efeito tóxico.

**Tabela 12** – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados meteorológicos.

<i>Endpoint</i>	Amostra	Valor de r	
		Temperatura Média	Pluviosidade Acumulada
I.M.	CRJ	0,020	-0,272
	TFQ	-0,218	-0,336
	ETB	0,081	0,214
	LE-E	0,076	<b>0,560</b>
	MRA	0,135	-0,151
	JRA1	0,113	-0,042
	JRA2	-0,093	-0,273
Citotoxicidade	CRJ	0,104	0,097
	TFQ	-0,183	0,007
	ETB	-0,151	-0,193
	LE-E	0,076	-0,155
	MRA	0,032	0,374
	JRA1	-0,418	-0,028
	JRA2	0,058	0,405
Genotoxicidade	CRJ	-0,373	-0,380
	TFQ	0,003	0,103
	ETB	0,012	-0,129
	LE-E	0,282	0,252
	MRA	0,183	0,070
	JRA1	0,083	0,045
	JRA2	0,421	0,051
Mutagenicidade	CRJ	0,008	-0,058
	TFQ	0,114	0,152
	ETB	0,138	0,028
	LE-E	0,104	0,035
	MRA	0,125	-0,006
	JRA1	0,056	0,065
	JRA2	0,204	0,043

**Fonte: elaborado pelo autor.**

I.M.: índice mitótico; CRJ: captação no rio Jaguarí; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

Os valores realçados determinam uma correlação forte. Correlação negativa –  $r \leq -0,5$ . Correlação positiva –  $r \geq 0,5$ .

Tabela 13 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos.

Amostra	Valor de r													
	C.Apar.	Colif.	Bact.	pH	Cond.	Temp.	Tur.	S.T.	S.S.	M.V.	M.F.R.	O.D.	D.Q.O.	D.B.O.
CRJ	-0,495	-0,208	-0,228	0,290	-0,256	-0,028	-0,426	-0,258	-0,242	-0,108	-0,309	0,281	-0,451	-0,349
TFQ	0,287	0,052	<b>0,704</b>	0,410	0,143	-0,473	-0,457	0,420	-0,076	0,267	<b>0,537</b>	0,404	<b>-0,742</b>	<b>-0,660</b>
ETB	0,097	<b>0,656</b>	-0,201	0,307	0,298	0,158	-0,076	0,178	0,088	-0,333	0,217	0,377	-0,159	-0,185
LE-E	<b>0,701</b>	-0,035	0,176	0,266	0,016	0,055	0,329	-0,001	<b>0,913</b>	0,122	0,049	-0,018	0,100	-0,204
MRA	-0,357	0,101	<b>0,505</b>	0,343	0,380	0,012	-0,457	0,153	0,434	0,121	-0,022	<b>0,579</b>	-0,152	0,087
JRA1	-0,301	-0,047	0,468	0,267	0,291	0,111	<b>-0,520</b>	0,267	0,005	-0,299	0,386	<b>0,586</b>	0,057	-0,167
JRA2	<b>-0,532</b>	-0,055	0,449	0,424	0,485	-0,174	<b>-0,626</b>	0,469	-0,328	0,352	0,085	0,436	0,051	0,128
CRJ	<b>0,666</b>	0,176	0,155	-0,055	0,211	0,101	0,198	0,449	0,262	-0,148	<b>0,569</b>	0,315	<b>0,679</b>	0,482
TFQ	<b>-0,662</b>	-0,244	-0,171	-0,135	0,045	0,096	0,068	0,151	-0,283	-0,062	0,133	-0,388	0,217	0,198
ETB	-0,009	-0,210	-0,016	0,065	-0,038	-0,206	0,176	0,033	0,291	0,325	-0,003	0,233	-0,007	-0,199
LE-E	-0,242	0,076	-0,169	-0,271	0,078	0,239	-0,229	0,012	-0,190	0,156	0,044	0,118	0,010	-0,259
MRA	0,423	0,359	0,048	0,099	-0,343	0,079	0,141	-0,061	-0,216	0,227	-0,014	0,155	0,251	-0,018
JRA1	<b>0,760</b>	0,338	-0,106	-0,224	-0,257	-0,324	0,018	0,112	0,227	<b>0,650</b>	0,094	0,323	-0,053	0,047
JRA2	0,468	0,340	0,084	-0,397	-0,329	0,053	0,486	0,037	-0,167	0,099	0,050	0,260	-0,002	-0,278
CRJ	0,232	0,142	0,126	-0,271	0,307	-0,323	-0,284	0,178	-0,119	-0,267	0,265	<b>0,613</b>	0,309	0,226
TFQ	0,083	0,041	-0,228	0,101	0,214	-0,019	-0,325	0,160	-0,134	0,094	0,086	0,011	-0,417	-0,340
ETB	0,301	0,193	-0,183	0,204	-0,105	-0,153	-0,116	0,060	<b>0,816</b>	0,025	-0,167	0,448	-0,355	-0,288
LE-E	<b>0,849</b>	-0,082	0,046	0,134	-0,304	0,152	0,312	-0,066	<b>0,645</b>	0,197	-0,281	0,199	0,004	-0,191
MRA	0,317	-0,127	-0,148	-0,037	0,022	0,479	0,241	-0,006	0,231	0,281	-0,164	-0,316	0,452	0,377
JRA1	0,228	-0,118	-0,180	-0,090	-0,366	0,016	0,196	0,148	0,009	<b>0,544</b>	-0,370	0,003	0,024	-0,226
JRA2	0,398	-0,121	-0,248	-0,166	<b>-0,502</b>	0,379	0,411	<b>-0,531</b>	0,481	-0,319	-0,394	-0,128	-0,191	0,041
CRJ	0,377	-0,041	-0,040	0,275	0,165	-0,077	0,114	0,459	0,210	-0,080	<b>0,541</b>	0,100	<b>0,529</b>	0,300
TFQ	-0,179	-0,259	-0,208	0,253	-0,207	-0,070	-0,361	-0,014	-0,048	-0,082	-0,250	-0,052	-0,096	-0,020
ETB	<b>0,668</b>	-0,039	-0,039	0,075	-0,065	-0,087	0,103	0,066	<b>0,540</b>	-0,186	-0,188	0,003	-0,201	-0,195
LE-E	<b>0,883</b>	-0,092	0,079	-0,292	-0,296	-0,010	0,268	0,059	0,480	0,033	-0,246	0,270	-0,082	-0,226
MRA	<b>0,750</b>	-0,118	-0,199	-0,122	-0,373	-0,031	0,286	0,274	-0,019	0,465	0,169	-0,013	0,207	0,190
JRA1	0,223	-0,150	-0,239	-0,106	-0,373	-0,037	0,222	0,174	-0,045	<b>0,560</b>	-0,342	-0,035	0,009	-0,218
JRA2	0,103	-0,217	-0,032	-0,056	-0,279	0,017	0,090	-0,178	-0,088	-0,104	-0,362	-0,062	0,171	-0,030

Fonte: elaborado pelo autor.

I.M.: índice mitótico; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização.

Os valores realçados determinam uma correlação forte. Correlação negativa  $-r \leq -0,5$ . Correlação positiva  $-r \geq 0,5$ .

Continuação da Tabela 13 – Resultados da correlação canônica (CCa) realizada entre os dados biológicos e os dados físicos e químicos.

Amostra	Valor de r												
	Clor.	Amô.	Nitri.	Nitra.	Sulf.	Cian.	Arsê.	Selên.	Al	Fe	Óleos	Transp.	
CRJ	0,215	0,260	0,466	-0,087	<b>-0,526</b>	-0,201	0,456	0,000	0,004	-0,370			
TFQ	0,254	-0,033	-0,167	-0,056	0,448	0,026	0,247	<b>0,598</b>	<b>-0,635</b>	<b>-0,735</b>			
ETB	-0,076	0,209	0,176	-0,123	<b>0,531</b>	-0,003	0,209	0,215	-0,102	0,020			
LE-E	-0,226	0,261	<b>0,814</b>	-0,138	<b>0,630</b>	0,043	<b>0,635</b>	-0,356	-0,037	0,017	0,147		
MRA	0,341	<b>0,524</b>	<b>0,513</b>	-0,123	-0,451	-0,223	-0,040	0,000	-0,123	-0,322	-0,174	0,161	
JRA1	0,286	0,400	0,417	-0,247	-0,472	-0,228	0,112	0,000	-0,374	-0,498		0,097	
JRA2	0,478	-0,041	0,181	-0,155	-0,293	-0,249	0,130	0,000	-0,259	-0,323	-0,148	0,303	
CRJ	-0,222	-0,264	-0,240	-0,197	<b>0,687</b>	<b>0,638</b>	-0,244	0,000	-0,104	0,096			
TFQ	-0,022	-0,027	0,037	-0,103	-0,221	0,037	0,019	-0,243	0,267	0,096			
ETB	0,074	-0,478	-0,098	-0,153	-0,270	-0,074	0,100	0,234	-0,177	-0,206			
LE-E	0,161	-0,356	-0,181	-0,246	-0,457	-0,255	0,032	0,282	-0,037	0,071	-0,331		
MRA	-0,381	-0,337	-0,425	-0,096	0,218	<b>0,517</b>	0,295	0,000	-0,107	0,045	<b>0,511</b>	-0,394	
JRA1	-0,328	-0,325	-0,210	-0,171	<b>0,607</b>	0,422	-0,057	0,000	-0,224	-0,015	<b>0,659</b>	-0,227	
JRA2	-0,496	-0,320	-0,355	-0,224	<b>0,541</b>	<b>0,754</b>	0,260	0,000	0,197	0,102		-0,458	
CRJ	0,385	-0,209	0,272	0,288	0,459	0,302	-0,338	0,000	-0,206	-0,139			
TFQ	0,215	-0,051	-0,266	-0,220	0,104	-0,178	0,337	0,375	-0,254	-0,342			
ETB	-0,339	0,364	-0,027	-0,233	0,252	-0,065	-0,215	0,299	-0,453	-0,149			
LE-E	-0,394	0,485	<b>0,802</b>	-0,257	0,440	-0,161	0,090	-0,085	-0,135	-0,092	0,354		
MRA	0,469	-0,133	-0,133	-0,072	-0,147	0,056	0,116	0,000	0,038	0,090	-0,069	0,024	
JRA1	-0,277	-0,092	-0,418	-0,064	<b>0,507</b>	0,463	0,149	0,000	-0,149	-0,036		-0,234	
JRA2	-0,234	0,464	-0,193	-0,262	-0,172	0,044	-0,346	0,000	-0,256	-0,021	-0,364	-0,103	
CRJ	-0,238	0,052	-0,281	-0,140	0,341	0,382	-0,238	0,000	-0,209	0,018			
TFQ	-0,165	-0,297	-0,024	-0,050	0,021	-0,363	-0,021	-0,147	-0,169	-0,213			
ETB	-0,319	<b>0,698</b>	0,202	-0,193	<b>0,523</b>	-0,123	-0,216	0,065	-0,192	0,005			
LE-E	-0,422	0,487	<b>0,735</b>	-0,211	0,324	-0,341	-0,130	-0,207	-0,153	0,018	0,339		
MRA	-0,251	-0,033	-0,406	0,043	0,485	0,193	-0,164	0,000	-0,150	0,076	0,097	-0,187	
JRA1	-0,290	-0,125	-0,445	-0,098	<b>0,554</b>	<b>0,508</b>	0,161	0,000	-0,095	0,015		-0,235	
JRA2	-0,309	<b>0,619</b>	-0,351	-0,167	0,085	0,323	0,070	0,000	-0,230	0,200	-0,171	-0,046	

Fonte: elaborado pelo autor.

I.M.: índice mitótico; CRJ: captação no rio Jaguari; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização; MRA: montante do rio Atibaia; JRA1: jusante do rio Atibaia a 200 m do local de despejo do efluente; JRA2: jusante do rio Atibaia a 300 m do local de despejo do efluente; TFQ: saída do tratamento físico-químico; ETB: saída do tratamento biológico; LE-E: efluente da refinaria após a lagoa de estabilização. Os valores realizados determinam uma correlação forte. Correlação negativa  $-r \leq -0,5$ . Correlação positiva  $-r \geq 0,5$ .

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, concluímos que:

- As análises físicas e químicas foram importantes para se determinar a qualidade das águas sob influência da refinaria de petróleo, assim como permitiram avaliar a eficácia do tratamento das águas servidas na refinaria;
- Os resultados das análises biológicas (citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade), por meio do bioindicador *Allium cepa*, demonstraram a presença de substâncias indutoras de divisão celular no efluente, a montante e a jusante do rio Atibaia. Não foram observados efeitos genotóxicos e mutagênicos para este organismo-teste, durante o período avaliado;
- Os resultados das análises biológicas (citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade), por meio do sistema-teste de *Oreochromis niloticus*, demonstraram a presença de substâncias potencialmente citotóxicas e genotóxicas nas amostras de efluentes tratados da refinaria e nas amostras de água coletadas, logo a jusante do local de despejo do efluente no rio Atibaia, pela exposição *ex situ*. Nenhum efeito mutagênico foi observado sobre os peixes, por esta forma de exposição às amostras coletadas.
- Os resultados obtidos pela exposição *in situ* corroboram as informações obtidas pela exposição *ex situ*, demonstrando um potencial genotóxico induzido pelas águas do rio Atibaia, após o recebimento dos efluentes tratados da refinaria de petróleo. No entanto, nenhum efeito mutagênico foi observado para os espécimes de *O. niloticus* expostos *in situ*, durante o período de estudo;
- A utilização de dois organismos-testes diferentes demonstrou-se importante, devido às diferenças de sensibilidade dos mesmos;

- A análise integrada dos fatores ambientais com os dados biológicos permitiu uma interpretação mais consistente dos efeitos das águas servidas da refinaria sobre os organismos-teste e possibilitou o levantamento de um cenário ambiental mais próximo da realidade. Este tipo de análise também permitiu concluir quais são as precariedades existentes no tratamento de efluente realizado pela refinaria.
- Os resultados das análises multivariadas canônicas serviram para indicar quais parâmetros ambientais (físicos, químicos, pluviométricos e térmicos) foram os principais interferentes nos parâmetros biológicos. Apesar deste método ser pouco explorado e de difícil interpretação, ele mostrou-se útil para auxiliar na investigação da qualidade de águas.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIN, H.; ASHIZAWA, A.; STEVENS, Y.-W.; et al. **Toxicological Profile for Lead**. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2007.

ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Aluminium-induced DNA damage and adaptive response to genotoxic stress in plant cells are mediated through reactive oxygen intermediates. **Mutagenesis**, v. 25, n. 2, p. 1–9, 2009.

AGARWAL, A.; SAXENA, M. Assessment of pollution by physicochemical water parameters using regression analysis: a case study of Gagan river at Moradabad-India. **Advances in Applied Science Research**, v. 2, n. 2, p. 185–189, 2011.

AHMAD, M. K.; NAQSHBANDI, A.; FAREED, M.; MAHMOOD, R. Oral administration of a nephrotoxic dose of potassium bromate, a food additive, alters renal redox and metabolic status and inhibits brush border membrane enzymes in rats. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 980–985, 2012.

AHMAD, M. K.; ZUBAIR, H.; MAHMOOD, R. DNA damage and DNA–protein cross-linking induced in rat intestine by the water disinfection by-product potassium bromate. **Chemosphere**, v. 91, n. 8, p. 1221–1224, 2013.

AHMED, M. K.; PARVIN, E.; ARIF, M.; et al. Measurements of genotoxic potential of cadmium in different tissues of fresh water climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch), using the comet assay. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 80–84, 2010.

ALBERTINI, R. J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G. R.; et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 463, n. 2, p. 111–172, 2000.

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. A.; BARBOSA, S. Evaluation of the cytogenotoxicity of textile effluents using *Allium cepa* L. **Ambi-Agua**, v. 6, n. 2, p. 255–265, 2011.

AVILEZ, I. M.; DE AGUIAR, L. H.; HORI, T. S.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829), exposed to environmental nitrite. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 4, p. 596–603, 2012.

ARAÚJO, C. S. T. **Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico do efluente de uma refinaria de petróleo e dos rios sob sua influência, por meio de bioensaios com *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae)**. 2013. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP.

AZEVEDO, J. DE S.; BRAGA, E. DE S.; RIBEIRO, C. A. O. Nuclear abnormalities in erythrocytes and morphometric indexes in the catfish *Cathorops spixii* (Ariidae) from different sites on the southeastern Brazilian coast. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 60, n. 3, p. 323–330, 2012.

BAMINI, B.; GANESAN, S.; KAVITHA, P. DNA damage responses to oxidative stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) exposed to polluted water. **Der Pharma Chemica**, 2014.

BARABASZ, W.; ALBINSKA, D.; JÁSKOWSKA, M.; LIPIEC, J. Ecotoxicology of Aluminium. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 11, n. 3, p. 199–203, 2002.

BARBÉRIO, A.; BARROS, L.; VOLTOLINI, J. C.; MELLO, M. L. S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Brazilian journal of biology**, v. 69, n. 3, p. 837–842, 2009.

BENINCÁ, C.; RAMSDORF, W.; VICARI, T.; et al. Chronic genetic damages in *Geophagus brasiliensis* exposed to anthropic impact in estuarine lakes at Santa Catarina coast—southern of Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 4, p. 2045–2056, 2012.

BERG, D.; GERLACH, M.; YODIM, M. B.; et al. Brain iron pathways and their relevance to Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 79, n. 2, p. 225–236, 2001.

BERGQUIST, E. R.; FISCHER, R. J.; SUGDEN, K. D.; MARTIN, B. D. Inhibition by methylated organo-arsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenase. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, p. 973–980, 2009.

BESSER, J. M.; BRUMBAUGH, W. G.; PAPOULIAS, D. M.; IVEY, C. D.; KUNZ, J. L.; ANNIS, M.; INGERSOLL, C. G. **Bioaccumulation and Toxicity of Selenium during a Life-Cycle Exposure with Desert Pupfish (*Cyprinodon macularius*)**. Scientific Investigations Reports 2012-5033. US Department of the Interior and US Geological Survey. 2012.

BEYER, J.; PETERSEN, K.; SONG, Y.; et al. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: A discussion paper. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 81–91, 2014.

BHOWMIK, N.; PATRA, M. Assessment of genotoxicity of inorganic mercury in rats in vivo using both chromosomal aberration and comet assays. **Toxicology and Industrial Health**, p. 1–7, 2013. DOI: 10.1177/0748233712469656.

BIAGINI, F. R.; DE OLIVEIRA DAVID, J. A.; FONTANETTI, C. S. The use of histological, histochemical and ultramorphological techniques to detect gill alterations in *Oreochromis niloticus* reared in treated polluted waters. **Micron**, v. 40, p. 839–844, 2009.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826–833, 2011.

BIRUNGI, Z.; MASOLA, B.; ZARANYIKA, M. F.; NAIGAGA, I.; MARSHALL, B. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 32, n. 15-18, p. 1350–1358, 2007.

BP Statistical Review of World Energy – June 2014. Londres: 63 Ed., 2014.

BOLLE, P.; MASTRANGELO, S.; TUCCI, P.; EVANDRI, M. G. Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 43, n. 2, p. 137–141, 2004.

BOLOGNESI, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 205–213, 2010.

BORBA, C. E.; GUIRARDELLO, R.; SILVA, E. A.; VEIT, M. T.; TAVARES, C. R. G. Removal of nickel(II) ions from aqueous solution by biosorption in a fixed bed column: Experimental and theoretical breakthrough curves. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, n. 2, p. 184–191, 2006.

BRIGGS, A. D.; GREENWOOD, N.; GRANT, A. Can turbidity caused by *Corophium volutator* (Pallas) activity be used to assess sediment toxicity rapidly? **Marine Environmental Pollution**, v. 55, n. 3, p. 181-192, 2003.

BRITO-PELEGRINI, N. N.; PELEGRINI, R. T.; PATERNIANI, J. E. S. Ecotoxicological evaluation of leachate from the Limeira sanitary landfill with a view to identifying acute toxicity. **Ambi-Agua**, v. 2, n. 3, p. 34-43, 2007.

CAO, J.; CHEN, J.; WANG, J.; et al. Effects of fluoride on liver apoptosis and Bcl-2, Bax protein expression in freshwater teleost, *Cyprinus carpio*. **Chemosphere**, v. 91, n. 8, p. 1203–1212, 2013.

CAO, Y.; WILLIAMS, D. D.; WILLIAMS, N. E. Data Transformation and Standardization in the Multivariate Analysis of River Water Quality. **Ecological Applications**, v. 9, n. 2, p. 669–677, 1999.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722–725, 2008.

CARMONA, E. R.; CREUS, A.; MARCOS, R. Genotoxic effects of two nickel-compounds in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 718, n. 1-2, p. 33–37, 2011.

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. Assessment of the Piscine Micronucleus Test as an in situ Biological indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123–2136, 1990.

CARVALHO, I. M. C. M. M.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; DANTAS, A. F.; et al. Genotoxicity of sodium metabisulfite in mouse tissues evaluated by the comet assay and the micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 720, n. 1-2, p. 58–61, 2011a.

CARVALHO, I. M. D. C. M. M.; CAVALCANTE, A. A. M.; DANTAS, A. F.; et al. Environmental mutagenicity and toxicity caused by sodium metabisulfite in sea shrimp harvesting in Piauí-, Brazil. **Chemosphere**, v. 82, n. 7, p. 1056–1061, 2011b.

ÇAVALAŞ, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Genotoxicity evaluation of metronidazole using the piscine micronucleus test by acridine orange fluorescent staining. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 107–111, 2005a.

ÇAVALAŞ, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. **Aquatic Toxicology**, v. 74, n. 3, p. 264–271, 2005b.

CAZOTTI, C. A.; FRANCISCO, K. M. S.; FILHO, D. L. G.; PRESTA, A. A.; MOIMAZ, S. A. S. Fluoride content in water of shallow wells. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 3, p. 494–499, 2012.

CBH-PCJ, Relatório da Situação dos Recursos Hídricos – **UGRHI 05: Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Jundiá e Capivari**, 2013.

CBH-PCJ, Relatório resumo – Bacias dos Rio Piracicaba, Jundiá e Capivari – **Plano HIDROPLAN**, 1997.

CETESB, **Relatório de qualidade de águas superficiais no estado de São Paulo - 2009**, São Paulo, 310 p., 2010.

CETESB, 2012. FIT – Ficha de informação toxicológica. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/bario.pdf>. Acesso em 14 out. 2014.

CETESB, **Águas superficiais – Variáveis de qualidade das águas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. 2014. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas>. Acesso em 14 out. 2014.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring - Second Edition**. 2nd ed. London: E&FN Spon - Chapman & Hall, 1996.

CHAPMAN, P. M.; BAILEY, H.; CANARIA, E. Toxicity of total dissolved solids associated with two mine effluents to chironomid larvae and early life stages of rainbow trout. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 210–214, 2000.

CHAU, N.; BENAMGHAR, L.; PHAM, Q. T.; et al. Mortality of iron miners in Lorraine (France): relations between lung function and respiratory symptoms and subsequent mortality. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 50, n. 11, p. 1017–1031, 1993.

CHEN, S.-H.; ZHOU, Q.-X.; SUN, T.-H.; LI, P.-J. Rapid ecotoxicological assessment of heavy metal combined polluted soil using canonical analysis. **Journal of Environmental Sciences**, v. 15, n. 6, p. 854–858, 2003.

CHINDE, S.; KUMARI, M.; DEVI, K. R.; et al. Assessment of genotoxic effects of lead in occupationally exposed workers. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 21, n. 19, p. 11469–11480, 2014.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1707–1719, 2006.

CONAMA. **Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasília, DF, 2005.

CONAMA. **Resolução nº 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasília, DF, 2011.

DE ANDRADE, V. M.; DE FREITAS, T. R. O.; SILVA, J. Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. **Mutation Research**, v. 560, n. 1, p. 57–67, 2004.

DE FLORA, S.; VIGANÒ, L.; D'AGOSTINI, F.; et al. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. **Mutation Research**, v. 319, n. 3, p. 167–177, 1993.

DE SCHAMPHELAERE, K. A. C.; JANSSEN, C. R. Cross-phylum extrapolation of the *Daphnia magna* chronic biotic ligand model for zinc to the snail *Lymnaea stagnalis* and the rotifer *Brachionus calyciflorus*. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 22, p. 5414–5422, 2010.

DEARFIELD, K. L.; CIMINO, M. C.; MCCARROLL, N. E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L. R. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 521, n. 1-2, p. 121–135, 2002.

DEBELS, P.; FIGUEROA, R.; URRUTIA, R.; BARRA, R.; NIELL, X. Evaluation of water quality in the Chillán River (Central Chile) using physicochemical parameters and a modified water quality index. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 110, n. 1-3, p. 301–322, 2005.

DOBLANDER, C.; LACKNER, R. Oxidation of nitrite to nitrate in isolated erythrocytes: a possible mechanism for adaptation to environmental nitrite. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 54, n. 1, p. 157–161, 1997.

DÜSMAN, E.; FARIA, J. S. DE; TOLEDO, F.; et al. Vegetal test-system investigation on cytotoxicity of water from urban streams located in the northeastern region of Maringá, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, 2011.

EISSA, B. L.; OSSANA, N. A.; FERRARI, L.; SALIBIAN, A. Quantitative Behavioral Parameters as Toxicity Biomarkers: Fish Responses to Waterborne Cadmium. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 4, p. 1032–1039, 2010.

EL-NAAS, M. H.; ALHAIJA, M. A.; AL-ZUHAIR, S. Evaluation of a three-step process for the treatment of petroleum refinery wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 56–62, 2014.

EVANS, C. L. The toxicity of hydrogen sulphide and other sulphides. **Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences**, v. 52, n. 3, p. 231–248, 1967.

FENECH, M.; CHANG, W. P.; KIRSCH-VOLDERS, M.; et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 534, n. 1-2, p. 65–75, 2003.

FERETTI, D.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; et al. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, n. 6, p. 561–572, 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent -Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, 2009.

FEWTRELL, L. Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 14, p. 1371–1374, 2004.

FONTANETTI, C. S.; CRISTOFOLETTI, C. A.; PINHEIRO, T. G. Microscopy as a tool in toxicological evaluations. **Microscopy: Science**, 2010.

FORE, L. S.; KARR, J. R.; WISSEMAN, R. W. Assessing invertebrate responses to human activities: Evaluating alternative approaches. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 15, n. 2, p. 212–231, 1996.

FRONTALINI, F.; COCCIONI, R. Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades. **Revue de Micropaléontologie**, v. 54, n. 2, p. 115–127, 2011.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal of Environmental Management**, 2011.

FUZINATTO, C. F.; FLOHR, L.; MELEGARI, S. P.; MATIAS, W. G. Induction of micronucleus of *Oreochromis niloticus* exposed to waters from the Cubatão do Sul River, southern Brazil. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 98, p. 103–109, 2013.

GABBIANELLI, R.; LUPIDI, G.; VILLARINI, M.; FALCIONI, G. DNA Damage Induced by Copper on Erythrocytes of Gilthead Sea Bream *Sparus aurata* and Mollusk *Scapharca inaequivalvis*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, n. 3, p. 350–356, 2003.

GALINDO, T. P.; MOREIRA, L. M. Evaluation of genotoxicity using the micronucleus assay and nuclear abnormalities in the tropical sea fish *Bathygobius soporator* (Valenciennes, 1837) (Teleostei, Gobiidae). **Genetics and molecular biology**, v. 32, n. 2, p. 394–398, 2009.

GERBER, G. B.; LÉONARD, A.; HANTSON, P. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 42, n. 1, p. 25–34, 2002.

GERTEL, P.; TORNISIELO, S.; MALAGUTTI, E. N. Water quality evaluation on São Joaquim and Ribeirão Claro stream, microbasin of Corumbatai river, São Paulo state, Brazil, **Holos Environment**, v. 3, n. 2, p. 130–350, 2003.

GHOSH, A.; MUKHERJEE, K.; GHOSH, S. K.; SAHA, B. Sources and toxicity of fluoride in the environment. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, n. 7, p. 2881–2915, 2013.

GÖMÜRGEN, A. N. Cytological Effect of the Potassium Metabisulphite and Potassium Nitrate Food Preservative on Root Tips of *Allium cepa* L. **Cytologia**, v. 70, n. 2, p. 119–128, 2005.

GUPTA, A. K.; AHMAD, I.; AHMAD, M. Genotoxicity of refinery waste assessed by some DNA damage tests. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, *in press*, 2014. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.03.032.

HARMON, S. M.; WILEY, F. E. Effects of Pollution on Freshwater Organisms. **Water Environment Research**, v. 83, n. 10, p. 1733–1788, 2011.

HARTWIG, A. Current aspects in metal genotoxicity. **Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine**, v. 8, n. 1, p. 3–11, 1995.

HARTWIG, A.; KRÜGER, I.; BEYERSMANN, D. Mechanisms in nickel genotoxicity: the significance of interactions with DNA repair. **Toxicology Letters**, v. 72, n. 1-3, p. 353–358, 1994.

HERRERO, O.; PÉREZ MARTÍN, J. M.; FERNÁNDEZ FREIRE, P.; et al. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 743, n. 1-2, p. 20–24, 2012.

HOSHINA, M. M.; DE ANGELIS, D. DE F.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 656, n. 1-2, p. 44–48, 2008.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the Genotoxicity of Petroleum Refinery Effluents Using the Comet Assay in *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 5, n. 1, p. 75–79, 2010.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090–2095, 2009.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 49-Chromium, nickel and welding**. Lyon. 1990.

J, M.; SINHA, S.; GHOSH, M.; MUKHERJEE, A. Evaluation of multi-endpoint assay to detect genotoxicity and oxidative stress in mice exposed to sodium fluoride. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 751, n. 1, p. 59–65, 2013.

JINDAL, R.; SHARMA, C. Studies on water quality of Sutlej River around Ludhiana with reference to physicochemical parameters. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 174, n. 1-4, p. 417–425, 2010.

JOMOVA, K.; JENISOVA, Z.; FESZTEROVA, M.; et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. **Journal of Applied Toxicology**, v. 31, p. 95-107, 2011.

KANG, N.; KANG, H.-I.; AN, K.-G. Analysis of Fish DNA Biomarkers as a Molecular-Level Approach for Ecological Health Assessments in an Urban Stream. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, p. 1–6, 2014.

KANU, I.; ACHI, O. K. Industrial effluents and their impact on water quality of receiving rivers in Nigeria. **Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation**, v. 1, n. 1, p. 75-86, 2011.

KASSIE, F. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 463, n. 1, p. 13–31, 2000.

KAYA, F. F.; TOPAKTAŞ, M. Genotoxic effects of potassium bromate on human peripheral lymphocytes in vitro. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, n. 1-2, p. 48–52, 2007.

KHEZAMI, L.; CAPART, R. Removal of chromium(VI) from aqueous solution by activated carbons: Kinetic and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 123, n. 1-3, p. 223–231, 2005.



KIENZLER, A.; BONY, S.; DEVAUX, A. DNA repair activity in fish and interest in ecotoxicology: A review. **Aquatic Toxicology**, v. 134-135, p. 47–56, 2013.

KLAUCK, C. R.; RODRIGUES, M. A. S.; BASSO DA SILVA, L. Toxicological evaluation of landfill leachate using plant (*Allium cepa*) and fish (*Leporinus obtusidens*) bioassays. **Waste Management & Research**, v. 31, n. 11, p. 1148–1153, 2013.

KUMAR, V.; GILL, K. D. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: A review. **NeuroToxicology**, v. 41, p. 154-166, 2014.

LARSON, J. H.; MAKI, R. P.; KNIGHTS, B. C.; GRAY, B. R. Can mercury in fish be reduced by water level management? Evaluating the effects of water level fluctuation on mercury accumulation in yellow perch (*Perca flavescens*). **Ecotoxicology**, v. 23, n. 8, p. 1555–1563, 2014.

LEAL, F. C. T.; LIBÂNIO, M. Estudo da remoção da cor por coagulação química no tratamento convencional de águas de abastecimento. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 7, n. 3-4, p. 117–128, 2002.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214–219, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—A case study. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 650, n. 1, p. 80–86, 2008.

LEMONS, C. T. DE; RÖDEL, P. M.; TERRA, N. R.; OLIVEIRA, N. C. D. DE; ERDTMANN, B. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 66, n. 3, p. 391–401, 2007.

LIMA, P.; VASCONCELLOS, M.; MONTENEGRO, R.; et al. Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 10, p. 1435–1444, 2011.

LIU, P.-W. G.; CHANG, T. C.; WHANG, L.-M.; et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 8, p. 1119–1127, 2011.

LU, J. L. Cyanide and Mercury Concentrations in Surface Water in a Large Mining Area in the Philippines. **Global Journal on Advances Pure and Applied Sciences**, v. 1, p. 450-465, 2013.

MACAULAY, B. M.; REES, D. Bioremediation of Oil Spills: A Review of Challenges for Research Advancement. **Annals of Environmental Science**, v. 8, p. 9–37, 2014.

MALIK, N.; DATE, A.; LEBLANC, J.; AKBARZADEH, A.; MEEHAN, B. Monitoring and maintaining the water clarity of salinity gradient solar ponds. **Solar energy**, v. 85, p. 2987–2996, 2011.

MANASSARAM, D. M.; BACKER, L. C.; MOLL, D. M. A review of nitrates in drinking water: maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 153–163, 2007.

MANSOURI, B.; EBRAHIMPOUR, M.; BABAEI, H. Bioaccumulation and elimination of nickel in the organs of black fish (*Capoeta fusca*). **Toxicology and Industrial Health**, v. 28, n. 4, p. 361–368, 2012.

MANZANO, B. C.; ROBERTO, M. M.; HOSHINA, M. M.; MENEGÁRIO, A. A.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of São Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1–9, 2014. DOI: 10.1007/s11356-014-3476-5.

MATSUMOTO, S. T. **Efeitos tóxicos e genotóxicos de metais pesados, especificamente do cromo trivalente e hexavalente**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2003.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips, **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, 148-158, 2006.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M.; et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and molecular biology**, v. 29, n. 1, p. 148–158, 2006.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; MARIN-MORALES, M. A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process. **Chemosphere**, v. 85, n. 1, p. 13–18, 2011.

MAZZEO, D. E. C.; LEVY, C. E.; ANGELIS, D.; MARIN-MORALES, M. A. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. **The Science of the Total Environment**, v. 408, n. 20, p. 4334–4340, 2010.

MELO, K. M.; ALVES, I. R.; PIECZARKA, J. C.; et al. Profile of micronucleus frequencies and nuclear abnormalities in different species of electric fishes (Gymnotiformes) from the Eastern Amazon. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 3, p. 425–429, 2013.

MELO, K. M.; GRISOLIA, C. K.; PIECZARKA, J. C.; et al. FISH in micronucleus test demonstrates aneugenic action of rotenone in a common freshwater fish species, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Mutagenesis**, v. 29, n. 3, p. 215–219, 2014.

MENSINGA, T. T.; SPEIJERS, G. J. A.; MEULENBELT, J. Health Implications of Exposure to Environmental Nitrogenous Compounds. **Toxicological Reviews**, v. 22, n. 1, p. 41–51, 2003.

MILLER, W. H. Jr; SCHIPPER, H. M.; LEE, J. S.; SINGER, J.; WAXMAN, S. Mechanisms of action of arsenic trioxide. **Cancer Research**, v. 62, p. 3893-3903, 2002.

MIR, M. I.; KHAN, S.; BHAT, S. A.; RESHI, A. A.; SHAH, F. A.; BALKI, M. H.; MANZOOR, R. Scenario of genotoxicity in fishes and its impact on fish industry. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 8, n. 6, p. 65-76. 2014.

MIRANDA, M. J.; PINTO, H. S.; ZULLO JÚNIOR, J.; FAGUNDES, R. M.; FONSECHI, D. B.; CALVE, L.; PELLEGRINO, G. Q. Clima dos municípios paulistas: A classificação climática de Koeppen para o Estado de São Paulo. CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura – UNICAMP. Disponível em <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>. Acesso em 14 out. 2014. 2014.

MOHAMED, I.; OTHMAN, F.; IBRAHIM, A. I. N.; ALAA-ELDIN, M. E.; YUNUS, R. M. Assessment of water quality parameters using multivariate analysis for Klang River basin, Malaysia. **Environmental and Monitoring Assessment**, v. 187, p. 4182, 2015.

NAGARATHNA, P.; WESLEY, M. J.; REDDY, P. S.; REENA, K. Review on Genotoxicity, its Molecular Mechanisms and Prevention. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 22, n. 1, p. 236-243, 2013.

NASEEM, R.; TAHIR, S. S. Removal of Pb(II) from aqueous/acidic solutions by using bentonite as an adsorbent. **Water Research**, v. 35, n. 16, p. 3982–3986, 2001.

OBE, G.; PFEIFFER, P.; SAVAGE, J. R. K.; et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation research**, v. 504, n. 1-2, p. 17–36, 2002.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 567, n. 2-3, p. 109–149, 2004.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N. D.; BOEIRA, J. M. Genotoxicidade e Análises Físico-Químicas das águas do Rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15–22, 2012.

OLORUNFEMI, D. I.; OKOLOKO, G. E.; BAKARE, A. A.; AKINBORO, A. Cytotoxic and genotoxic effects of cassava effluents using the *Allium cepa* assay. **Research Journal of Mutagenesis**, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2011.

OLUKANNI, D. O.; DUCOSTE, J. J. Optimization of waste stabilization pond design for developing nations using computational fluid dynamics. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 11, p. 1878-1888, 2011.

OMAR, W. A.; ZAGHLOUL, K. H.; ABDEL-KHALEK, A. A.; ABO-HEGAB, S. Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. **Mutation research**, v. 746, n. 1, p. 7-14, 2012.

ORLOFF, K.; MISTRY, K.; METCALF, S. Biomonitoring for Environmental Exposures to Arsenic. **Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews**, v. 12, n. 7, p. 509-524, 2009.

OSIBANJO, O.; DASO, A. P.; GBADEBO, A. M. The impact of industries on surface water quality of River Ona and River Alaro in Oluyole Industrial Estate, Ibadan, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 696-702, 2011.

OYARO, N.; JUDDY, O.; MURAGO, E. N. M.; GITONGA, E. The contents of Pb, Cu, Zn and Cd in meat in Nairobi, Kenya. **Journal Of Food Agriculture And Environment**, v. 5, n. 3-4, p. 119-121, 2007.

ÖZKAN, F.; GÜNDÜZ, S. G.; BERKÖZ, M.; HUNT, Ö. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, following exposure to sublethal cadmium doses. **Turkish Journal of Zoology**, v. 35, n. 4, p. 585-592, 2011.

PAKRASHI, S.; JAIN, N.; DALAI, S.; et al. In Vivo Genotoxicity Assessment of Titanium Dioxide Nanoparticles by *Allium cepa* Root Tip Assay at High Exposure Concentrations. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, 2014.

PAULINO, A. T.; MINASSE, F. A. S.; GUILHERME, M. R.; et al. Novel adsorbent based on silkworm chrysalides for removal of heavy metals from wastewaters. **Journal of colloid and interface science**, v. 301, n. 2, p. 479-487, 2006.

PELAEZ, A. I.; LORES, I.; SOTRES, A.; MENDEZ-GARCIA, C.; FERNANDEZ-VELARDE, C.; SANTOS, J. A.; GALLEGO, J. L. R.; SANCHEZ, J. Design and field-scale implementation of an "on site" bioremediation treatment in PAH-polluted soil. **Environmental Pollution**, v. 181, p. 190-199, 2013.

PÉREZ-CHACA, M. V.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; MOLINA, A. S.; et al. Cadmium induces two waves of reactive oxygen species in *Glycine max* (L.) roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 7, p. 1672-1687, 2014.

PÉREZ, R. M.; CABRERA, G.; GÓMEZ, J. M.; ÁBALOS, A.; CANTERO, D. Combined strategy for the precipitation of heavy metals and biodegradation of petroleum in industrial wastewaters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182, n. 1-3, p. 896-902, 2010.

PETROBRAS. Refinaria de Paulínia (Replan). Disponível em <<http://www.petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/refinarias/refinaria-de-paulinia-replan.htm>>. Acesso em: 05 dez. 2014.

PRIESTLEY, C. C.; GREEN, R. M.; FELLOWS, M. D.; et al. Anomalous genotoxic responses induced in mouse lymphoma L5178Y cells by potassium bromate. **Toxicology**, v. 267, n. 1-3, p. 45–53, 2010.

RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V.; et al. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 5, p. 1228–1233, 2010.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, v. 418, n. 2-3, p. 113–119, 1998.

RASGELE, P. G.; KEKECOGLU, M.; GOKALP MURANLI, F. D. Induction of Micronuclei in Mice Bone Marrow Cells by Cobalt and Copper Chlorides. **Archives of Environmental Protection**, v. 39, n. 1, p. 75–82, 2013.

RIBEIRO, D. L.; BARCELOS, G. R. M.; D'ARCE, L. P. G. Genotoxic Effects of Water from São Francisco River, Brazil, in *Astyanax paranae*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 93, n. 3, p. 274–279, 2014.

ROBERTO, M. M. **Avaliação do potencial antimutagênico de extrato etanólico de própolis verde e de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), por meio de sistema-teste de *Allium cepa* e células de mamíferos (HTC)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP. 2009.

RODRIGUES, F. P.; ANGELI, J. P. F.; MANTOVANI, M. S.; GUEDES, C. L. B.; JORDÃO, B. Q. Genotoxic evaluation of an industrial effluent from an oil refinery using plant and animal bioassays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, n. 1, p. 169–175, 2010.

RODRIGUEZ-CEA, A.; AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Micronucleus test in freshwater fish species: an evaluation of its sensitivity for application in field surveys. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 56, n. 3, p. 442–448, 2003.

ROQUES, J. A. C.; SCHRAM, E.; SPANINGS, T.; et al. The impact of elevated water nitrite concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). **Aquaculture Research**, p. 1-12, 2013. DOI: 10.1111/are.12292.

SAKLY, A.; AYED, Y.; CHAARI, N.; et al. Assessment of chromosomal aberrations and micronuclei in peripheral lymphocytes from tunisian hospital workers exposed to ionizing radiation. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 17, n. 9, p. 650–655, 2013.

SAMPAIO, S. C.; SILVESTRO, M. G.; FRIGO, E. P.; BORGES, C. M. Relação entre série de sólidos e condutividade elétrica em diferentes águas residuárias. **Irriga**, v. 12, n. 4, p. 557–562, 2007.

SAMPAIO, L. Com crise hídrica, indústrias querem usar poços em vez de água de rios. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 15 nov. 2014. Disponível em <<http://www1.folha.uol.com.br/cotidiano/2014/11/1548647-com-crise-hidrica-industrias-querem-usar-pocos-em-vez-de-agua-de-rios.shtml>>. Acesso em: 19 nov. 2014.

SANTAMARIA, A. B.; SULSKY, S. I. Risk Assessment of an Essential Element: Manganese. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 2-3, p. 128–155, 2010.

SANTO, C. E.; VILAR, V. J. P.; BOTELHO, C. M. S.; et al. Optimization of coagulation–flocculation and flotation parameters for the treatment of a petroleum refinery effluent from a Portuguese plant. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 117–123, 2012.

SANTOS, R.; PALOS-LADEIRO, M.; BESNARD, A.; REGGIO, J.; VULLIET, E.; PORCHER, J. M.; BONY, S.; SANCHEZ, W.; DEVAUX, A. Parental exposure to methyl methane sulfonate of three-spined stickleback: contribution of DNA damage in male and female germ cells to further development impairment in progeny. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 5, p. 815–824, 2013.

SCALON, M. C. S.; RECHENMACHER, C.; SIEBEL, A. M.; et al. Evaluation of Sinos River water genotoxicity using the comet assay in fish. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1217–1222, 2010.

SCHRAM, E.; ROQUES, J. A. C.; ABBINK, W.; et al. The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture**, v. 306, n. 1-4, p. 108–115, 2010.

SEOANE, A. I.; DULOUT, F. N. Contribution to the validation of the anaphase-telophase test: aneugenic and clastogenic effects of cadmium sulfate, potassium dichromate and nickel chloride in Chinese hamster ovary cells. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 551–555, 1999.

SERIANI, R.; ABESSA, D. M. S.; KIRSRSCHBAUM, A. A.; et al. Water toxicity and cytogenotoxicity biomarkers in the fish *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 67–72, 2012.

SEVCIKOVA, M.; MODRA, H.; SLANINOVA, A.; SVOBODOVA, Z. Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 11, p. 537–546, 2011.

SEYMORE, T.; PREEZ, DU, H. H.; VAN VUREN, J. Manganese, lead and strontium bioaccumulation in the tissues of the yellowfish, *Barbus marequensis* from the lower Olifants River, Eastern Transvaal. **Water SA**, v. 21, n. 2, p. 159–172, 1995.

SINHA, S.; SAXENA, R.; SINGH, S. Fluoride removal from water by *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle and its toxic effects. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 65, p. 683–690, 2000.

SOBRAL, O.; MARIN-MORALES, M. A.; RIBEIRO, R. Could contaminant induced mutations lead to a genetic diversity overestimation? **Ecotoxicology**, v. 22, n. 5, p. 838–846, 2013.

SOLIMAN, M. I. Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. **Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1021-1027, 2001.

SOUZA, P. M. S.; CORROQUÉ, N. A.; MORALES, A. R.; MARIN-MORALES, M. A.; MEI, L. H. I. PLA and Organoclays Nanocomposites: Degradation Process and Evaluation of ecotoxicity Using *Allium cepa* as Test Organism. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 4, p. 1052–1063, 2013.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. DNA damage of erythrocytes of fish *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae), after acute exposure to river water receiving effluent from an oil refinery. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, 2012.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 605, n. 1-2, p. 87–93, 2006.

SPARKS, T. H.; SCOTT, W. A.; CLARKE, R. T. Traditional multivariate techniques: Potential for use in ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 128–137, 1999.

SRIVASTAVA, R.; KUMAR, D.; GUPTA, S. K. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1867–1871, 2005.

STRUNJAK-PEROVIC, I.; COZ-RAKOVAC, R.; POPOVIC, N. T.; JADAN, M. Seasonality of nuclear abnormalities in gilthead sea bream *Sparus aurata* (L.) erythrocytes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 287–291, 2009.

SUWANNOPPADOL, S.; HO, G.; CORD-RUWISCH, R. Overcoming sodium toxicity by utilizing grass leaves as co-substrate during the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 125, n. C, p. 188–192, 2012.

SVECEVIČIUS, G. Acute toxicity of nickel to five species of freshwater fish. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 19, n. 2, p. 453-456, 2010.

THYBAUD, V.; AARDEMA, M.; CLEMENTS, J.; et al. Strategy for genotoxicity testing: Hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 627, n. 1, p. 41–58, 2007.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 201–204, 2006.

USEPA. **Drinking water; National Primary Drinking Water Regulations; Filtration, Disinfection; Turbidity, Giardia lamblia, Viruses, Legionella, and Heterotrophic Bacteria; Final Rule.** 1989.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Copper in Drinking Water**. National Academy Press, 2005.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Spacecraft Water Exposure Guidelines for Selected Contaminants: Volume 2**. National Academy Press, 2006.

USEPA - US. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Nitrates and Nitrites. **Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health**, p. 1–14, 2007.

USEPA, Toxic Releases Inventory (TRI) - Releases: Industry Report, 2013. Disponível em <http://www.epa.gov/triexplorer/industry.htm>. Acesso em 04 out. 2014.

VAN HILLE, R. P.; A PETERSON, K.; LEWIS, A. E. Copper sulphide precipitation in a fluidised bed reactor. **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 10, p. 2571–2578, 2005.

VANDEGEHUCHTE, M. B.; VANDENBROUCK, T.; CONINCK, D. D.; DE COEN, W. M.; JANSSEN, C. R. Can metal stress induce transferable changes in gene transcription in *Daphnia magna*? **Aquatic Toxicology**, v. 97, n. 3, p. 188–195, 2010.

VANZELLA, T. P.; MARTINEZ, C. B. R.; CÓLUS, I. M. S. Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 631, n. 1, p. 36–43, 2007.

VENTURA-CAMARGO, B. DE C.; PARISE MALTEMPI, P. P.; APARECIDA, M.; MORALES, M. The use of the Cytogenetic to Identify Mechanisms of Action of an Azo Dye in *Allium cepa* Meristematic Cells. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, v. 01, n. 109, doi:10.4172/2161-0525.1000109, 2011.

VIALLE, C.; SABLAYROLLES, C.; LOVERA, M.; et al. Monitoring of water quality from roof runoff: Interpretation using multivariate analysis. **Water Research**, v. 45, n. 12, p. 3765–3775, 2011.

VIGNATI, D. A. L.; DOMINIK, J.; BEYE, M. L.; PETTINE, M.; FERRARI, B. J. D. Chromium(VI) is more toxic than chromium(III) to freshwater algae: A paradigm to revise? **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 743–749, 2010.

WEBER-SCANNEL, P. K.; DUFFY, L. K. Effects of Total Dissolved Solids on Aquatic Organisms: A Review of Literature and Recommendation for Salmonid Species. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2007.

WHO - World Health Organization. Barium and barium compounds. **Concise International Chemical Assesment Document**. Genebra, 52p. 2001.

WISE, S. S.; SCHULER, J. H. C.; KATSIFIS, S. P.; WISE, J. P. Barium chromate is cytotoxic and genotoxic to human lung cells. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 42, pp. 274-278, 2003.



WRIGHT, J. A.; YANG, H.; WALKER, K.; et al. The H<sub>2</sub>S test versus standard indicator bacteria tests for faecal contamination of water: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 17, n. 1, p. 94–105, 2012.

WROBEL S. Aluminium in some surface waters in Poland. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny (Annals of the National Institute of Hygiene)**, v. 44, n. 1. P. 65-72, 1993.

YILMAZ, H.; KETEN, A.; KARACAOGLU, E.; TUTKUN, E.; AKCAN, R. Analysis of the hematological and biochemical parameters related to lead intoxication. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 19, n. 8, p. 452–454, 2012.

YUSUFF, R. O.; SONIBARE, J. A. Characterization of textile industries' effluents in Kaduna, Nigeria and pollution implications. **Global Nest: the International Journal**, v. 6, n. 3, p. 212-221, 2004.

ŽEGURA, B.; HEATH, E.; ČERNOŠA, A.; FILIPIČ, M. Combination of *in vitro* bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. **Chemosphere**, v. 75, p. 1453–1460, 2009.

ZHANG, Y.; JIANG, L.; JIANG, L.; et al. Possible involvement of oxidative stress in potassium bromate-induced genotoxicity in human HepG2 cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 189, n. 3, p. 186–191, 2011.

---

Matheus Mantuanelli Roberto

---

Maria Aparecida Marin Morales