

DOCUMENTO

Tipo	Data	Origem	Nº Página / V	Nº Mapas
RELATÓRIO TÉCNICO	15/12/06	CETESB	52 (incluindo anexos)	2

TÍTULO DO DOCUMENTO

Estudo de Genotoxicidade de Amostras da Bacia do Ribeirão dos Cristais

AUTOR RESPONSÁVEL

Assinatura / Carimbo / Data
Gisela de Aragão Umbuzeiro
 Gisela de Aragão Umbuzeiro
 Gerente da Divisão de Toxicologia,
 Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental
 Reg. 01.4491-0 - CRB 01.118 / 01-0

AUTORES / ENTIDADES OU UNIDADES A QUE PERTENCEM

- (1) Gisela de Aragão Umbuzeiro (Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental – EAM)
- (2) Daniella Palma de Oliveira (ex-estagiária da EAM)
- (3) Daniela Dayrell França (Setor de Análises Toxicológicas - EAMM)
- (4) Maria Inês Zanoli Sato (Departamento de Análises Ambientais – EA)

DOCUMENTO AUTORIZADO POR

Assinatura / Carimbo / Data
Maria Inês Zanoli Sato
 Maria Inês Zanoli Sato
 Gerente do Departamento de Análises
 Ambientais
 Reg. 01.2443-I CRBM 3556

DOCUMENTO REVISADO

Assinatura / Carimbo / Data
Maria Inês Zanoli Sato
 Maria Inês Zanoli Sato
 Gerente do Departamento de Análises
 Ambientais
 Reg. 01.2443-I CRBM 3556

CLASSIFICAÇÃO DE SEGURANÇA

- Externa Interna
 Reservada

PALAVRAS CHAVES

Genotoxicidade, teste de *salmonella*/microsoma, corantes azóicos, efluentes de indústrias têxteis, carcinogênese, Ribeirão dos Cristais.

CÓDIGO E TÍTULO DO PROJETO

42351000/2003 e 42052200/2004 – Atualização e Aperfeiçoamento de Metodologias Analíticas

DISTRIBUIÇÃO INTERNA

Áreas / Nº de Cópias

USO DA BIBLIOTECA

Classificação de Assunto

Nº Documento

Visto / Carimbo / Data

TÍTULO DO DOCUMENTO

Estudo de Genotoxicidade de Amostras da Bacia do Ribeirão dos Cristais

RESUMO

No Programa de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, realizado pela CETESB, o ribeirão dos cristais, localizado na região metropolitana de São Paulo, ao contrário de outros corpos d'água do Estado, apresentava sistematicamente atividade mutagênica frente ao teste de *Salmonella/microsoma*. A água do ribeirão dos Cristais é captada e tratada em uma Estação de Tratamento de Água (ETA), responsável pelo abastecimento de cerca de 60.000 pessoas da cidade de Cajamar. Análises adicionais mostraram que a água de beber produzida pela ETA apresentava atividade mutagênica adicional quando comparada com água de outra ETA. Estudos sugeriram que a atividade mutagênica adicional estava relacionada à presença de compostos policíclicos da classe dos nitro e/ou aminas aromáticas.

O Objetivo principal deste estudo foi investigar as fontes de mutagenicidade detectada no ribeirão dos Cristais, elucidando quais os compostos responsáveis. Para atingir estes objetivos, o projeto contou com a colaboração de vários institutos de pesquisa nacionais e de outros países. Diversas amostras de água bruta, sedimento, efluentes, lodo de estações de tratamento e água tratada foram analisadas por meio de bioensaios e determinações químicas diversas.

O estudo indicou que a atividade mutagênica era causada por uma indústria de tingimento que lançava em seu efluente tratado corantes mutagênicos. Os corantes não eram completamente removidos pelo tratamento de lodos ativados de indústria. A cloração destes corantes durante o processo de tratamento de água da ETA causava perda de cor dos mesmos, sem levar à eliminação da mutagenicidade.

\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\

Com base nos resultados obtidos neste projeto, ações de prevenção e controle foram tomadas, levando a SABESP a construir um duto coletor para afastar os efluentes domésticos e industriais que estavam impactando a qualidade da água produzida pela ETA de Cajamar. Em 2004 a SABESP iniciou a coleta dos referidos efluentes, levando a melhoria da qualidade da água bruta do ribeirão dos Cristais.

OBSERVAÇÕES



CETESB

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL

EA – DEPARTAMENTO DE ANÁLISES AMBIENTAIS

**EAM – DIVISÃO DE TOXICOLOGIA, GENOTOXICIDADE E MICROBIOLOGIA
AMBIENTAL**

Projeto:

Atualização e aperfeiçoamento de metodologias analíticas

**Relatório Técnico
Estudo da genotoxicidade de amostras
da bacia do Ribeirão dos Cristais
O.S.: 42351000/2003
42052200/2004
41531000/2005**

São Paulo

2006

RESUMO

No Programa de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, realizado pela CETESB, o ribeirão dos Cristais, localizado na região metropolitana de São Paulo, ao contrário de outros corpos d'água do Estado, apresentava sistematicamente atividade mutagênica frente ao teste de Salmonella/microsoma. A água do ribeirão dos Cristais é captada e tratada em uma Estação de Tratamento de Água (ETA), responsável pelo abastecimento de cerca de 60.000 pessoas da cidade de Cajamar. Análises adicionais mostraram que a água de beber produzida pela ETA apresentava atividade mutagênica adicional quando comparada com água de outra ETA. Estudos sugeriram que a atividade mutagênica adicional estava relacionada à presença de compostos policíclicos da classe dos nitro e/ou aminas aromáticas.

O objetivo principal deste estudo foi investigar as fontes da mutagenicidade detectada no ribeirão dos Cristais, elucidando quais os compostos responsáveis. Para atingir estes objetivos, o projeto contou com a colaboração de vários institutos de pesquisa nacionais e de outros países. Diversas amostras de água bruta, sedimento, efluentes, lodo de estações de tratamento e água tratada foram analisadas por meio de bioensaios e determinações químicas diversas.

O estudo indicou que a atividade mutagênica era causada por uma indústria de tingimento que lançava em seu efluente tratado corantes mutagênicos. Os corantes não eram completamente removidos pelo tratamento de lodos ativados da indústria. A cloração destes corantes durante o processo de tratamento de água da ETA causava perda da cor dos mesmos, sem levar à eliminação da mutagenicidade.

Com base nos resultados obtidos neste projeto, ações de prevenção e controle foram tomadas, levando a SABESP a construir um duto coletor para afastar os efluentes domésticos e industriais que estavam impactando a qualidade da água produzida pela ETA de Cajamar. Em 2004 a SABESP iniciou a coleta dos referidos efluentes, levando a melhoria da qualidade da água bruta do ribeirão dos Cristais.

ÍNDICE

1. DADOS RELATIVOS AO PROJETO.....	1
2. INTRODUÇÃO.....	6
3. OBJETIVOS.....	7
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
4.1. Área de estudo.....	8
4.1.1 Pontos de Coleta.....	10
4.2. Métodos.....	12
5. RESULTADOS.....	15
5.1. Resultados do Teste de Salmonella/microsoma (Teste de Ames).....	15
5.2. Resultados de outros bioensaios realizados.....	18
5.3. Determinações químicas.....	20
6. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	24
7. RECOMENDAÇÕES.....	26
8. REFERÊNCIAS.....	28
9. ANEXOS.....	30
9.1. Dados brutos do teste de <i>Salmonella/microsoma</i>	31
9.2. Artigos.....	37

ÍNDICE DE TABELAS

1. Resumo dos diferentes testes empregados na avaliação da genotoxicidade das amostras coletadas na região do ribeirão dos Cristais.....	13
2. Diferentes métodos empregados nas determinações de compostos orgânicos das amostras coletadas no ribeirão dos Cristais.	14
3. Resultados médios (revertentes/L eq.) para o teste de Salmonella/microsoma das amostras de água e efluente com as linhagens TA98 e YG1041.....	16
4. Resultados médios (rev/g eq.) para o teste de Salmonella/microsoma das amostras de sedimento e lodo de esgoto com as linhagens TA98 e YG1041.....	17
5. Resumo dos resultados qualitativos de todos os bioensaios realizados nas amostras mais relevantes da região do ribeirão dos Cristais.....	19
6. Compostos ou classes de compostos mutagênicos detectados nas análises químicas realizadas nas amostras da bacia do ribeirão dos Cristais.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Localização do ribeirão dos Cristais na Região Metropolitana de São Paulo.....	8
2. Diagrama unifilar da região do ribeirão dos Cristais.....	9
3. Lançamento do efluente tratado da indústria de tingimento no Ribeirão dos Cristais.....	11
4. Local da captação da ETA de Cajamar, no ribeirão dos Cristais.....	12
5. Saída do duto da SABESP no ribeirão dos Cristais.....	12
6. Corantes componentes do produto comercial preto CVS e suas potências mutagênicas para as linhagens TA98 e YG1041.....	15
7. Micronúcleo em célula de <i>Tradescantia pallida</i>	18
8. Efeitos genotóxicos observados em <i>Allium cepa</i> com amostras deste estudo.....	18
9. Cromatogramas de CCD das amostras do ribeirão dos Cristais.....	20

LISTA DE ARTIGOS ANEXADOS

I. UMBUZEIRO, G.A., ROUBICEK, D.A., RECH, C.M., SATO, M.I.Z., CLAXTON, L.D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures. **Chemosphere**, 54, 1589-1597, 2004.

II. UMBUZEIRO, G.A., FREEMAN, H.S., WARREN, S.H., OLIVEIRA, D.P., TERAQ, Y., WATANABE, T., CLAXTON, L.D. The contribution of azo dyes to the mutagenicity activity of the Cristais River. **Chemosphere**, 60, 55-64, 2005.

III. OLIVEIRA, D.P., KUHLMANN, M.L., UMBUZEIRO, G.A. Evaluation of the presence of mutagenic dyes in sediments from Cristais River. **Soil & Sediment Contamination**, 15, 455-462, 2006a.

IV. MAZZO, T.M., SACZK, A.A., UMBUZEIRO, G.A., ZANONI, M.V.B. Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from a textile industry by liquid chromatographic with electrochemical detection. **Analytical Letters**, 39, 2671-2685, 2006.

V. OLIVEIRA, D.P., CARNEIRO, P.A., SAKAGAMI, M.K., ZANONI, M.V.B., UMBUZEIRO, G.A. Chemical characterization of a dye processing plant effluent – Identification of the mutagenic components. **Mutation Research**, 626, 135-142, 2007.

VI. LIMA, R.O.A., BAZO, A.P., SALVADORI, D.M.F., RECH, C.M., OLIVEIRA, D.P., UMBUZEIRO, G.A. Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. **Mutation Research**, 626, 53-60, 2007.

VII. OLIVEIRA, D.P., CARNEIRO, P.A., RECH, C.M., ZANONI, M.V.B., CLAXTON, L.D., UMBUZEIRO, G.A. Mutagenic compounds generated from the chlorination of disperse azo-dyes and their presence in drinking water. **Environ. Sci. Technol.**, 40, 6682-6689, 2006b.

VIII. UMBUZEIRO, G.A., COIMBRAO, C.A., KUMMROW, F., LOBO, D.J., SALDIVA, P.H.N. Mutagenic activity assessment of Cristais river – São Paulo, Brazil, using the blue rayon /Salmonella microsome and the Tradescantia pallida micronuclei assays. *Aceito para publicação no JBSE - Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2006.

IX. CARITÁ, R., MORALES, M.A.M. “Indução de aberrações cromossômicas em sistema-teste de *Allium cepa* por efluente industrial contaminado com azocorante”. *Para ser enviado para publicação*.

RELATÓRIO FINAL DO PROJETO

1. DADOS RELATIVOS AO PROJETO

1.1. Título:

Atualização e aperfeiçoamento de metodologias analíticas

1.1.1 Sub-projeto:

Estudo da genotoxicidade de amostras da bacia do Ribeirão dos Cristais

1.2. Número da O.S.: 42351000/2003
42052200/2004
41531000/2005

1.3. Região abrangida pelo trabalho do projeto

Bacia hidrográfica do Ribeirão dos Cristais

1.4. Unidades encarregadas

Departamento de Análises Ambientais (EA)

Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental (EAM)

Divisão de Qualidade das Águas (EEQ)

Setor de Análises Toxicológicas (EAMM)

Setor de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental (EAMT)

Agência Ambiental Santana (CDS)

1.5. Elementos responsáveis pelo projeto

1.5.1. Coordenador do projeto

Nome: Maria Inês Zanoli Sato

Qualificação Profissional: Biomédica, Mestre – Área: Microbiologia e Imunologia
Doutora em Ciências – Área: Microbiologia

Cargo: Gerente do Departamento de Análises Ambientais

1.5.2. Coordenador do sub-projeto

Nome: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Qualificação Profissional: Bióloga, Mestre e Doutora em Ciências
Biológicas – Área: Genética
Cargo: Gerente da Divisão de Toxicologia,
Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental

1.5.3. Equipe Técnica

1.5.3.1. Nome: Paulo Fernando Rodrigues
Qualificação Profissional: Biólogo, Mestre em Ciências (Fisiologia Geral)
Cargo: Biólogo

1.5.3.2. Nome: Deborah Arnsdorff Roubicek
Qualificação Profissional: Bióloga, Mestre em Ciências Biológicas e
Doutora em Toxicologia
Cargo: Bióloga

1.5.3.3. Nome: Célia Maria Rech
Qualificação Profissional: Biomédica
Cargo: Biomédica

1.5.3.4. Nome: Danielle Palma de Oliveira
Qualificação Profissional: Farmacêutica-bioquímica, Mestre e Doutora em
Toxicologia e Análises Toxicológicas
Cargo: Estagiária de pós-graduação

1.5.3.5. Nome: Carlos Alberto Coimbrão
Qualificação Profissional: 2º Grau/Técnico em Química
Cargo: Técnico de Laboratório Avançado

- 1.5.3.6. Nome: Fábio Kummrow
Qualificação Profissional: Farmacêutico-bioquímico, Mestre e Doutor em Toxicologia e Análises Toxicológicas
Cargo: Farmacêutico-bioquímico
- 1.5.3.7. Nome: Francisco José Viana de Castro
Qualificação Profissional: Químico
Cargo: Técnico Químico
- 1.5.3.8. Nome: Wálace Ânderson Almeida Soares
Qualificação Profissional: Químico
Cargo: Técnico Químico
- 1.5.3.9. Nome: José Eduardo Bevilacqua
Qualificação Profissional: Químico, Mestre e Doutor em Química (Química Analítica)
Cargo: Gerente da Divisão de Qualidade das Águas
- 1.5.3.10. Nome: Nelson Menegon Jr.
Qualificação Profissional: Engenheiro
Cargo: Gerente do Setor de Águas Interiores
- 1.5.3.11. Nome: Lourival Affonso Klupel Wanke
Qualificação Profissional: Engenheiro Químico
Cargo: Engenheiro Químico
- 1.5.3.12. Nome: Daniela Dayrell França
Qualificação Profissional: Farmacêutica-bioquímica, Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas
Cargo: Farmacêutica-bioquímica

1.5.4. Colaborações Externas

Dr. Harold S. Freeman

Dept. Of Textile Engineering, Chemistry & Science

North Carolina State University – EUA

Maureen Sakagami e Caetano Mautone

Laboratório de Controle de Qualidade da Água

SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo)

Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni

Alunos de pós-graduação: Patrícia Carneiro

Tatiana Mazzo

Adelir Saczk

Instituto de Química

UNESP – Campus Araraquara

Dra. Daisy Fávero Salvadori

Alunos de pós-graduação: Ana Paula Bozo

Rodrigo Octávio de Lima

Departamento de Patologia – Faculdade de Medicina

UNESP – Campus Botucatu

Dra. Maria Aparecida Marin Morales

Aluna de graduação: Renata Caritá

Instituto de Biociências

UNESP – Campus Rio Claro

Dr. Larry Claxton
Mike Kohan
Sarah Warren
Environmental Carcinogenesis Division
US Environmental Protection Agency – EUA

Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva
Ana Júlia Lichtenfels
Sandra Soares
Débora-Jã de Araújo Lobo
Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental
Departamento de Patologia
USP – Faculdade de Medicina

2. INTRODUÇÃO

Em 1998, a Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA), por meio da Resolução nº65/98, introduziu oficialmente na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo realizada pela CETESB, o teste de Salmonella/microsoma (Teste de Ames), que avalia a presença de atividade mutagênica para linhagens de *Salmonella typhimurium*. O teste foi incluído com o propósito de aprimorar a avaliação dos corpos d'água com relação à presença de substâncias orgânicas genotóxicas tais como aminas aromáticas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, entre outras, em níveis que possam provocar efeito mutagênico (UMBUZEIRO et al., 2001). Atualmente a atividade mutagênica, determinada pelo teste de Salmonella/microsoma, é parâmetro utilizado no cálculo do IAP – Índice de Qualidade da Água Bruta para fins de Abastecimento Público – utilizado pela CETESB (CETESB, 2006).

Os principais mananciais de água utilizados para abastecimento público vêm sendo analisados bimestralmente desde 1998 e os resultados, apresentados nos relatórios de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo. A maioria dos locais avaliados apresenta respostas negativas para o teste de mutagenicidade, demonstrando boa qualidade dos corpos d'água do Estado de São Paulo em relação a este parâmetro (CETESB, 2003A).

O ribeirão dos Cristais, localizado na região metropolitana de São Paulo, no entanto, apresentava sistematicamente resultados positivos para o teste de Salmonella/microsoma (CETESB, 1999; 2000; 2001 e 2002). A água do ribeirão dos Cristais é captada e tratada em uma Estação de Tratamento de Água (ETA), responsável pelo abastecimento de cerca de 60.000 pessoas da cidade de Cajamar (produção de aproximadamente 340 m³ de água tratada/h). Análises adicionais mostraram que a água de beber produzida pela ETA apresentava atividade mutagênica adicional quando comparada com água de outra ETA, cuja água bruta apresentava resultados negativos para o Teste de Salmonella/microsoma (KUMMROW et al., 2003 e UMBUZEIRO et al., 2004). Os mesmos estudos sugeriram que a atividade mutagênica adicional estava relacionada à presença de compostos policíclicos da classe dos nitro e/ou aminas aromáticas, uma vez que as respostas obtidas com diversas linhagens e procedimentos de extração podem ser indicativos da classe de compostos mutagênicos presentes na amostra (UMBUZEIRO et al., 2004).

A determinação e identificação de compostos genotóxicos presentes em água para abastecimento é um passo fundamental para a avaliação dos níveis de exposição e predição dos possíveis efeitos do consumo desta mistura complexa por humanos. Apesar do senso comum de que o maior risco dos compostos mutagênicos seja a indução de câncer, atualmente há evidências de que as mutações de ponto podem provocar danos em células germinativas ou somáticas levando ao desenvolvimento de outras doenças como: doenças hereditárias, cardiovasculares, anemia, distúrbios reprodutivos, neurocomportamentais e do desenvolvimento, além do impacto no processo de envelhecimento (DEARFIELD et al., 2002). Esses dados motivaram a realização de um estudo mais aprofundado da região.

Parte dos resultados aqui apresentados foram obtidos durante o programa de pós-doutorado da Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro, realizado na USEPA, financiado pela FAPESP, durante o período de setembro de 2002 a janeiro de 2003, quando as principais colaborações foram estabelecidas. Devido a complexidade do assunto, muitos estudos foram necessários, gerando diversos artigos científicos, apresentados no anexo deste relatório. Estes dados foram gerados tanto nos laboratórios da CETESB, como nos laboratórios das instituições colaboradoras. Outra parte dos dados gerados no projeto estão apresentados na tese de doutorado “Corantes como uma importante classe de contaminantes ambientais – Um estudo de caso” de Danielle Palma de Oliveira, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, realizada sob orientação da Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro. Uma cópia da tese encontra-se disponível na biblioteca da CETESB.

3. OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo foi investigar as fontes da mutagenicidade detectada no ribeirão dos Cristais, bem como da água tratada produzida captada desse ribeirão, elucidando quais os compostos responsáveis. Este estudo se deu ao longo de 4 anos, durante os quais foi necessário implantar novos métodos analíticos, adaptar métodos já existentes e alterar as estratégias de avaliação da genotoxicidade realizadas pela CETESB. Para atingir estes objetivos, o projeto contou com a colaboração de vários institutos de pesquisa nacionais e de outros países.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

Foi feita uma visita prévia para a escolha dos pontos de coleta adequados para o estudo, incluindo um ponto mais próximo da cabeceira do ribeirão, que não sofre impacto de despejos, considerado neste estudo como referência. Foram também identificados os despejos lançados no Ribeirão dos Cristais e pontos a montante e a jusante foram demarcados para se estudar a influência dos respectivos despejos na qualidade do local. O mapa da localização do local na região metropolitana e o diagrama unifilar do ribeirão estão nas Figuras 1 e 2.

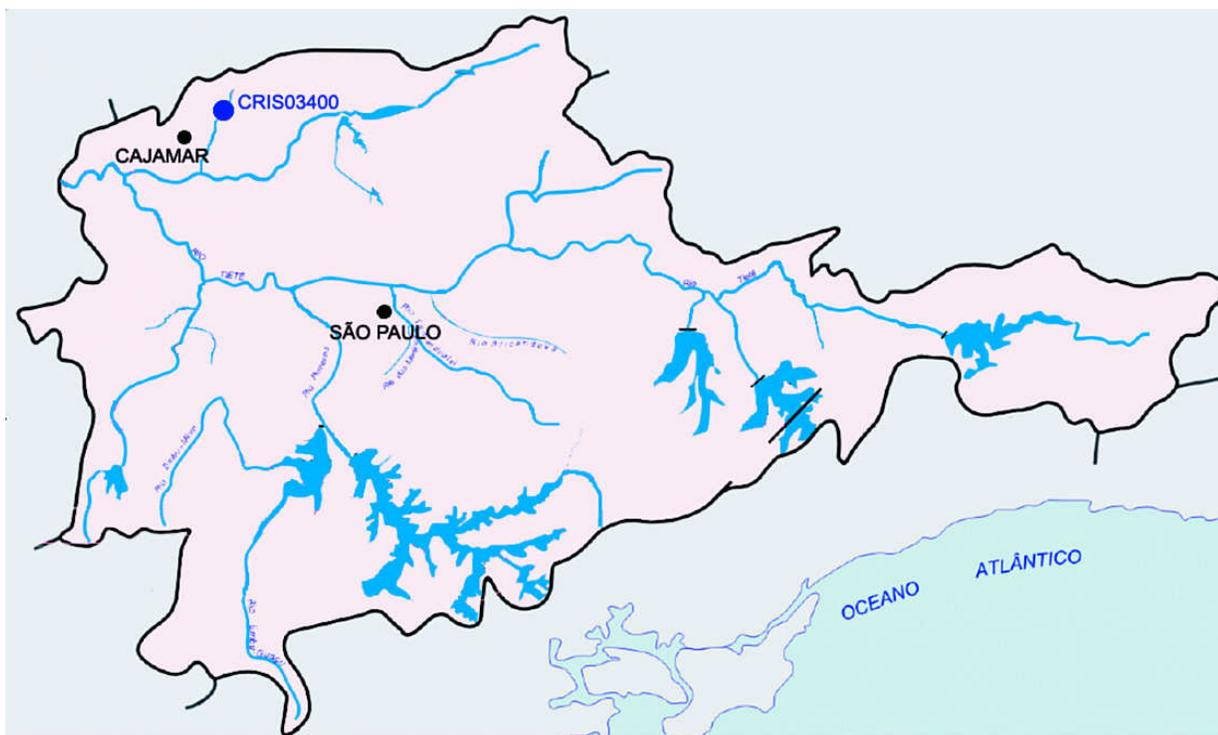
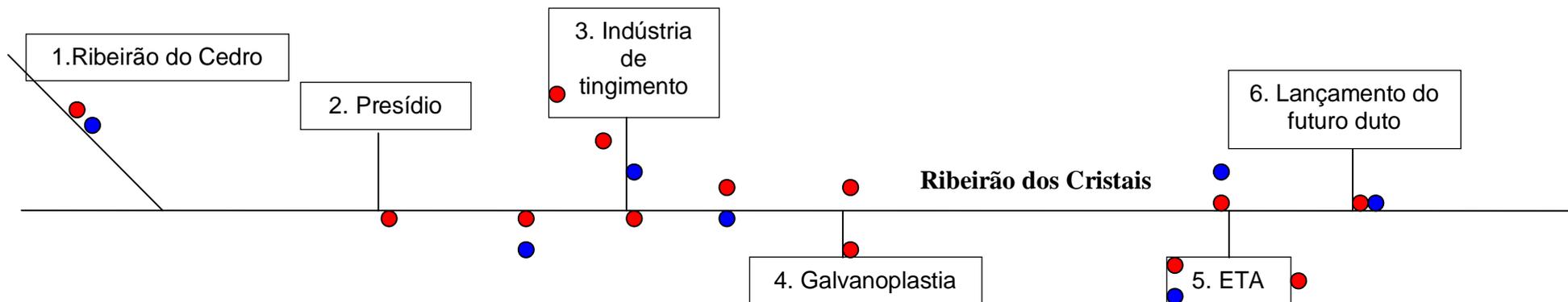


Figura 1. Localização do ribeirão dos Cristais na Região Metropolitana de São Paulo



- Pontos de coleta de amostras líquidas (água bruta, tratada, efluentes bruto ou tratados)
- Pontos de coleta de amostras sólidas (sedimento ou lodo de estação de tratamento)

Figura 2. Diagrama unifilar da região do ribeirão dos Cristais

4.1.1 Pontos de Coleta

- *Córrego do Cedro (Ponto 1)*
 - Descrição: tributário do Ribeirão dos Cristais, localizado dentro da fazenda Serra dos Cristais, no município de Cajamar.
 - Características: próximo à nascente do Ribeirão dos Cristais, área rural, afastada de fontes poluidoras industriais. O local apresentou o menor grau de degradação da região, sendo considerado como ponto referencial ou controle.
 - Amostras coletadas: água superficial e sedimento.

- *Presídio (Ponto 2)*
 - Descrição: saída de lançamento de efluentes da penitenciária “Mário de Moura de Albuquerque”, que abriga uma população de 2.500 pessoas.
 - Características: Esgoto lançado sem tratamento adequado no Ribeirão dos Cristais.
 - Amostras coletadas: efluente lançado no Ribeirão e água superficial à jusante do presídio.

- *Indústria de Tingimento (Ponto 3) (Figura 3)*
 - Descrição: local de despejo de efluentes de indústria localizada a aproximadamente 6 km da ETA.
 - Características: Indústria de tingimento de nylon e poliéster, instalada há 20 anos na região. Possui Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) por lodos ativados, lançando aproximadamente 15 m³/h de efluente industrial tratado no Ribeirão dos Cristais.
 - Amostras coletadas: sedimento a montante e a jusante da indústria; água superficial a jusante da indústria; água subterrânea usada para o processo industrial, efluentes bruto e tratado da ETE e o seu lodo resultante do processo.



Figura 3. Lançamento do efluente tratado da indústria de tingimento no Ribeirão dos Cristais.

- *Galvanoplastia (Ponto 4)*
 - Descrição: local de despejo de efluentes de indústria galvânica.
 - Características: fábrica de sistemas de refrigeração. Faz tratamento físico-químico de seus efluentes e seu despejo atende o artigo 21 da legislação vigente (BRASIL, 2005) para metais e outros poluentes.
 - Amostras coletadas: efluente tratado lançado no ribeirão.

- *Estação de tratamento de água de Cajamar (Ponto 5) (Figura 4)*
 - Descrição: Estação de tratamento contratada pela SABESP, capta água do ribeirão dos Cristais para tratamento e abastecimento da população de Cajamar. A vazão do rio é de aproximadamente $540\text{m}^3/\text{h}$ e da ETA é $340\text{m}^3/\text{h}$.
 - Características: A água do ribeirão entra por gravidade na caixa de entrada da ETA. É utilizado tratamento que consiste da aplicação de soda cáustica para correção de pH, pré cloração com cloro gás, adição de sulfato de alumínio (livre de ferro), floculação, coagulação e flotação. De acordo com informações dos técnicos que operam a ETA, no período noturno, o consumo de cloro aumenta significativamente podendo chegar a 500ppm , para que seja atingido o cloro residual de $1,5$ no final do processo.

- Amostras coletadas: sedimento no local de captação da ETA; água superficial captada pela ETA; água após pré-cloração na ETA; água tratada final na saída da ETA e o lodo gerado pelo sistema de flotação da ETA.



Figura 4. Local da captação da ETA de Cajamar, no ribeirão dos Cristais.

- *Duto da SABESP (Ponto 6)* (Figura 5)
 - Descrição: local de futuro lançamento dos efluentes coletados pela SABESP
 - Características: localizado a jusante da ETA.
 - Amostra coletada: sedimento



Figura 5. Saída do duto da SABESP no ribeirão dos Cristais

4.2. Métodos

Este estudo compreendeu inicialmente uma campanha preliminar para a realização de algumas determinações químicas, seguida de 3 campanhas de coleta completas, bem como de outras análises para confirmação e análises de parâmetros específicos. As Tabelas 1 e 2 descrevem, resumidamente, os métodos desenvolvidos e utilizados neste estudo. Informações mais detalhadas encontram-se nas publicações geradas no projeto, que se encontram anexas a este relatório.

Tabela 1. Resumo dos diferentes testes empregados na avaliação da genotoxicidade das amostras coletadas na região do ribeirão dos Cristais.

Organismo	Ensaio	Efeito genotóxico avaliado/Condições do teste
Bactéria	Teste de Salmonella/microsoma	Mutações de ponto. Teste de Ames em microsuspenção (Teste de Kado), linhagens TA98, TA100, YG1041, YG1042, com e sem ativação metabólica (S9). Extração orgânica líquido-líquido para amostras de efluente, resina XAD4 para amostras de água, ultrassom para o sedimento e lodo e técnica de blue rayon com concentração <i>in situ</i> , para as águas do ribeirão. Doses máximas testadas de 20mL equivalentes (eq.) para efluentes ^(a, b, d) ; 100mL eq. para água bruta ^(a) ; 250mL eq. para água tratada ^(a) , 500mg eq. para sedimento ^(c) e lodo ^(a) e 400mg eq. para blue rayon concentrado <i>in situ</i> ^(a, e) .
Plantas	<i>Tradescantia pallida</i> (TRAD-MCN) (realizado em colaboração com o grupo do Dr. Paulo Saldiva - FM-USP)	Micronúcleos em células germinativas após 6 horas de exposição. Teste realizado com o efluente industrial tratado <i>in natura</i> a 0,3, 3,0 e 10,0% e com exposição de 24h no rio. O extrato orgânico da água e sedimento do rio na captação da ETA foram avaliados com 5, 50 e 500mL eq. para água e 0,5, 5,0 e 50mg eq. de sedimento por mL de solução testada ^(e, f) .
	<i>Allium cepa</i> (realizado em colaboração com o grupo da Dra. Maria Aparecida Marin Morales – IB – UNESP Rio Claro)	Número de aberrações cromossômicas em semente. Diferentes concentrações (0,3, 3,0, 10,0 e 100,0%) do efluente industrial tratado <i>in natura</i> foram testadas. O índice mitótico também foi avaliado ^(g) .
Roedores	Camundongos Balb/C (realizado em colaboração com o grupo do Dr. Paulo Saldiva – FM-USP)	Micronúcleo em eritrócitos, 48h após exposição via intraperitoneal. Apenas extratos orgânicos foram testados. Concentrações de 0,15, 1,0 e 15µL eq. Água/ g de animal.
	Ratos Wistar (realizado em colaboração com o grupo da Dra. Daisy Fávero Salvadori – FM-UNESP Botucatu)	Indução de focos de criptas aberrantes (ACF) em cólon. Ratos foram expostos via água de beber com concentrações de 0,1, 1,0 e 10% do efluente industrial tratado <i>in natura</i> ^(b)

^a UMBUZEIRO et al., 2005

^b LIMA et al., 2007

^c OLIVEIRA et al., 2006a

^d OLIVEIRA et al., 2007

^e UMBUZEIRO et al., 2006

^f LOBO et al., 2004

^g CARITÁ, 2005

Tabela 2. Diferentes métodos empregados nas determinações de compostos orgânicos das amostras coletadas no ribeirão dos Cristais.

Técnica	Colaborações	Classes de compostos analisados
Cromatografia gasosa com detector massa/massa (GC/MS/MS Ion Trap) ^(a)	Maureen Sakagami e Caetano Mautone da SABESP	<ul style="list-style-type: none"> • Aminas aromáticas • Produtos secundários de desinfecção com cloro, gerados a partir de ácidos húmicos e fúlvicos (MX e cloral hidrato) • Outras substâncias orgânicas
Cromatografia em camada delgada (CCD), com irradiação das placas com UV onda curta (254nm) – detecção visual ^(a, b, c, d, e)	Método desenvolvido em colaboração com Dr. Harold Freeman – College of Textiles – NCSU e análises realizadas nos laboratórios da CETESB	<ul style="list-style-type: none"> • Corantes dispersos (CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93 e CI Disperse Orange 37) • Outros corantes desconhecidos • Compostos fluorescentes FC 1, 2 e 3
Cromatografia líquida com detector de Arranjo de Diodos (HPLC/DAD) ^(a, d)	Método desenvolvido em colaboração com o grupo da Dra. Valnice Boldrin – IQ – UNESP Araraquara	<ul style="list-style-type: none"> • Detecção e quantificação de corantes dispersos (CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93 e CI Disperse Orange 37) • Detecção e quantificação de sub-produtos de cloração de corantes
Cromatografia líquida com detector eletroquímico (HPLC/DE) ^(f)	Método desenvolvido em colaboração com o grupo da Dra. Valnice Boldrin – IQ – UNESP Araraquara	<ul style="list-style-type: none"> • Detecção e quantificação de benzina, o-toluidina, 3,3 diclorobenzidina e 3,3 dimetilbenzidina • Detecção e quantificação de corantes dispersos (CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93 e CI Disperse Orange 37) • Detecção e quantificação de sub-produtos de cloração de corantes

^a OLIVEIRA et al., 2007

^b UMBUZEIRO et al., 2005

^c LIMA et al., 2007

^d OLIVEIRA et al., 2006a

^e UMBUZEIRO et al., 2006

^f MAZZO et al., 2006

Para obtenção dos sub-produtos oriundos do tratamento dos corantes, foi efetuada a cloração dos corantes CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93 e CI Disperse Orange 37 em escala laboratorial, conforme descrito em OLIVEIRA et al. (2006b), simulando o que ocorre na ETA do ribeirão dos Cristais.

5. RESULTADOS

5.1. Resultados do Teste de Salmonella/microsossoma (Teste de Ames)

As Tabelas 3 e 4 mostram os resultados obtidos para o teste de Salmonella/microsossoma para as amostras da bacia do Ribeirão dos Cristais. Foram apresentados os resultados obtidos com as linhagens TA98 e YG1041, por terem sido as mais sensíveis. As tabelas apresentam a média dos revertentes/L ou g para cada ponto por tipo de extração. Quando o resultado era único, o mesmo foi apresentado individualmente. Resultados com outras linhagens e comparações com outros pontos controle podem ser encontrados nas publicações e tabelas anexas. A Figura 6 apresenta a fórmula dos corantes encontrados e sua potência mutagênica para as linhagens TA98 e YG1041.

Blue Component of BDCP (C.I. Disperse Blue 373)	TA98-S9	1,8 rev/ug
	TA98+S9	480 rev/ug
	YG1041-S9	100 rev/ug
	YG1041+S9	6.300 rev/ug
Violet Component of BDCP (C.I. Disperse Violet 93)	TA98-S9	10 rev/ug
	TA98+S9	1.000 rev/ug
	YG1041-S9	195 rev/ug
	YG1041+S9	4.600 rev/ug
Orange component of BDCP (C.I. Disperse Orange 37)	TA98-S9	7,2 rev/ug
	TA98+S9	46 rev/ug
	YG1041-S9	160 rev/ug
	YG1041+S9	280 rev/ug

Figura 6. Corantes componentes do produto comercial preto CVS e suas potências mutagênicas para as linhagens TA98 e YG1041.

5.1.1. Amostras de água e efluente

Tabela 3. Resultados médios (revertentes/L eq.) para o teste de Salmonella/microsossoma das amostras de água e efluente com as linhagens TA98 e YG1041.

Local de coleta	Tipo de Extração	TA98		YG1041	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Ponto 1 – Ribeirão do Cedro – ponto controle	XAD, blue rayon (BR) em coluna e concentrado <i>in situ</i> (n*=2) ^(a)	ND**	ND	ND	ND
Ponto 2 – Efluente presídio	XAD (n=1) ^(a)	NR***	NR	ND	ND
Ponto 3 – Água subterrânea utilizada pela ind. de tingimento	XAD (n=1) ^(a)	ND	ND	ND	ND
Ponto 3 – Efluente bruto indústria de tingimento	Líquida-Líquida (n=2) ^(a)	20.000	250.000	720.000	33.000.000
Ponto 3 – Efluente tratado indústria de tingimento	Líquida-Líquida (n=4) ^(a, b, c)	30.100	112.000	445.000	2.400.000
Ponto 4 – Efluente galvanoplastia	Líquida-Líquida (n=1) ^(a)	ND	ND	NR	NR
Rib. Cristais após ind. Tingimento	XAD (n=1) ^(b)	NR	NR	1.600	10.000
	BR concentrado <i>in situ</i> **** (n=1) ^(b)	ND	1.600	2.900	49.000
Ponto 5 – Rib. Cristais captação ETA	XAD (n=4) ^(a, b, d, e)	200	350	8.200	12.600
	BR concentrado <i>in situ</i> (n=2) ^(a, b)	180	200	12.900	33.500
	BR em coluna (n=2) ^(d)	52	84	6.400	9.600
Água pré-clorada pela ETA	XAD (n=1) ^(b)	ND	ND	3.600	900
	BR em coluna (n=1) ^(d)	ND	ND	10.000	10.800
Água tratada pela ETA	XAD (n=3) ^(b, d, e)	210	94	5.200	3.400
	BR em coluna (n=4) ^(a, d)	130	100	6.800	4.200

* n= número de resultados em cada ponto avaliado

** ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

*** NR: Não realizado

****Resultados em rev/g de blue rayon

^a UMBUZEIRO et al., 2004

^b CETESB, 2003b

^c LIMA et al., 2007

^d KUMMROW et al., 2003

^e UMBUZEIRO et al., 2005

5.1.2. Amostras de sedimento e lodo de estação de tratamento

Tabela 4. Resultados médios (rev/g eq.) para o teste de Salmonella/microsossoma das amostras de sedimento e lodo de esgoto com as linhagens TA98 e YG1041.

Local de coleta	Artigos anexados	TA98		YG1041	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Ponto 1 – Ribeirão do Cedro – ponto controle (n*=1)	(a)	ND**	ND	440	290
Rib. Cristais antes ind. Tingimento (n=1)	(a)	ND	ND	100	242
Rib. Cristais após ind. Tingimento (n=2)	(a, b)	ND	ND	50	25.000
Ponto 3 – Lodo da ETE da indústria de tingimento (n=1)	(b)	NR	NR	7.000	158.000
Ponto 5 – Rib. Cristais na captação da ETA (n=4)	(a, b, c)	ND	300	1.200	20.000
Ponto 5 – Lodo da ETA (n=2)	(b, d)	1.100	1.200	67.000	52.000
Ponto 6 – Rib. Cristais no local do duto (n=1)	(b)	NR***	NR	390	5.900

* n= número de resultados em cada ponto avaliado

***NR: Não realizado

^a OLIVEIRA et al., 2006a

^c UMBUZEIRO et al., 2004

**ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

^b CETESB, 2003b

^d UMBUZEIRO et al., 2005

5.2. Resultados de outros bioensaios realizados

A Tabela 5 apresenta o resumo dos resultados qualitativos de todos os bioensaios realizados nas amostras mais relevantes analisadas durante o projeto, sendo que as Figuras 7 e 8 ilustram alguns dos achados para os bioensaios com *Allium cepa* e *T. pallida*. Os resultados obtidos foram comparados com local de referência (ponto 1). Os detalhes dos resultados estão apresentados nos artigos anexos. Resultados do Teste de Salmonella/microsossoma foram incluídos para fins comparativos.

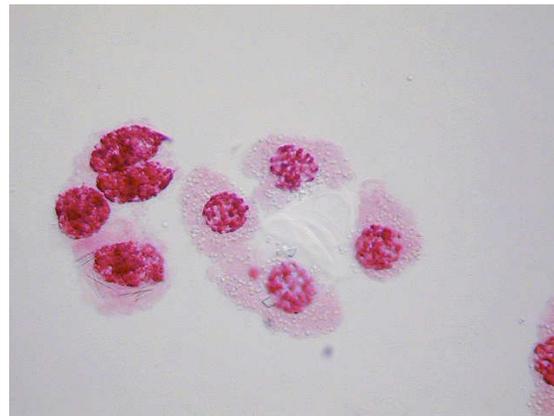
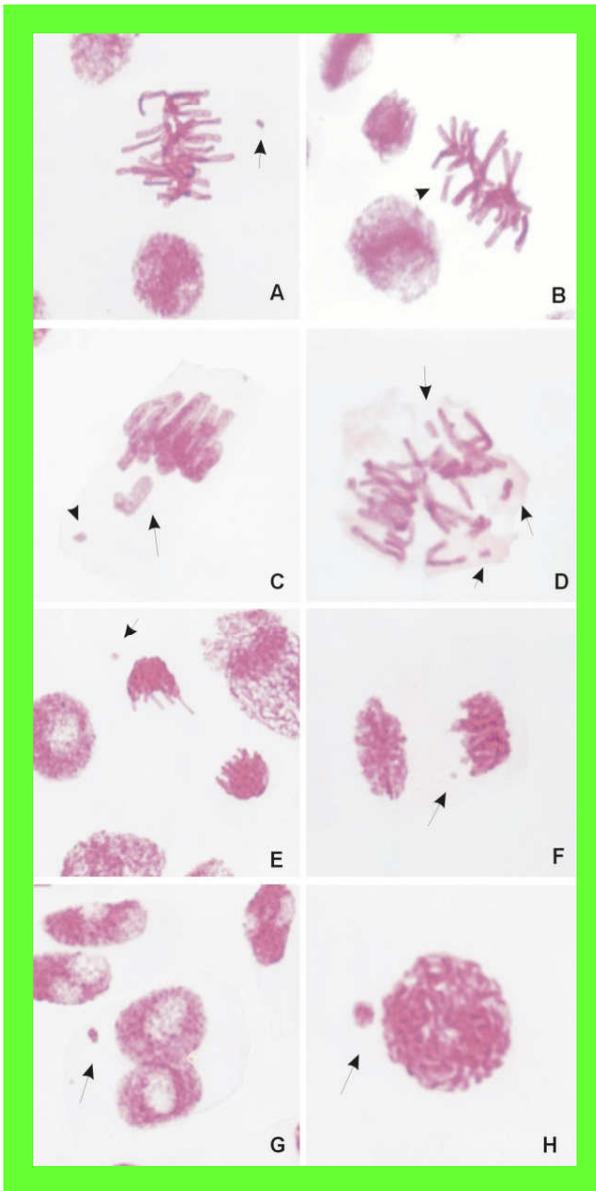


Figura 7. (acima). Micronúcleo em célula de *Tradescantia pallida*.

Figura 8. (ao lado). Efeitos genotóxicos observados em *Allium cepa* com amostras deste estudo. **A.** Metáfase com quebra cromossômica; **B.** Metáfase com quebra de um braço cromossômico; **C.** Metáfase com quebra de um braço cromossômico (seta) e pequena quebra de material genético (cabeça de seta); **D.** Metáfase com várias quebras cromossômicas e cromossomos perdidos; **E.** e **F.** Telófases com quebras cromossômicas; **G.** Célula binucleada com micronúcleo; **H.** Prófase com micronúcleo. (CARITÁ & MORALES, 2006)

Tabela 5. Resumo dos resultados qualitativos de todos os bioensaios realizados nas amostras mais relevantes da região do ribeirão dos Cristais.

Amostras	Resultados
Ponto 3 – Efluente bruto da indústria de tingimento	Teste de Salmonella/microsoma: extrato orgânico, positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9 ^(a)
Ponto 3 – Efluente tratado da indústria de tingimento	<p>Teste de Salmonella/microsoma: extrato orgânico, positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9 ^(a, b, c)</p> <p>Tradescantia pallida, micronúcleo: <i>In natura</i>, induziu aumento estatisticamente significativo na formação de micronúcleos ^(d, e)</p> <p>Allium cepa, aberrações cromossômicas: <i>In natura</i>, induziu micronúcleos, quebras e aberrações cromossômicas ^(f)</p> <p>Focos de criptas aberrantes em cólon de ratos: Induziu multiplicação de criptas e focos de criptas aberrantes em ratos tratados por via oral ^(c)</p>
Ponto 3 – Lodo da ETE da indústria de tingimento	Teste de Salmonella/microsoma: positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9, semelhante aos efluentes. ^(b)
Ponto 5 – Água superficial na captação da ETA	<p>Teste de Salmonella/microsoma: extrato orgânico (XAD e blue rayon), positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9 ^(a, b, g, h)</p> <p>Tradescantia pallida, micronúcleo: extrato orgânico e teste com exposição <i>in situ</i> induziram aumento estatisticamente significativo na formação de micronúcleos quando comparado a local controle ^(d)</p> <p>Camundongos, micronúcleo em eritrócitos: extrato orgânico, aumento na formação de micronúcleos</p>
Ponto 5 – Água tratada produzida pela ETA	Teste de Salmonella/microsoma: extrato orgânico (XAD e blue rayon), positivo como a água bruta da captação, porém menos mutagênica em geral ^(a, b, g, h)
Ponto 5 – Sedimento do ribeirão dos Cristais na captação	<p>Teste de Salmonella/microsoma: extrato orgânico (XAD e blue rayon), positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9 ^(a, b, i)</p> <p>Tradescantia pallida, micronúcleo: extrato orgânico induziu aumento estatisticamente significativo na formação de micronúcleos ^(d)</p>
Ponto 5 – Lodo da ETA	Teste de Salmonella/microsoma: positivo para TA98 e YG1041, com aumento da mutagenicidade na presença de S9 ^(b, h)

^a UMBUZEIRO et al., 2004

^b CETESB, 2003b

^c LIMA et al., 2007

^d UMBUZEIRO et al., 2006

^e LOBO et al., 2004

^f CARITÁ, 2005

^g KUMMROW et al., 2003

^h UMBUZEIRO et al., 2005

ⁱ OLIVEIRA et al., 2006a

5.3. Determinações químicas

Os resultados de CCD encontram-se na Figura 9. A Tabela 6 apresenta o resumo dos compostos ou classes de compostos detectados nas determinações químicas por tipo de amostra analisada. Os detalhes dos resultados estão apresentados nos artigos anexos.

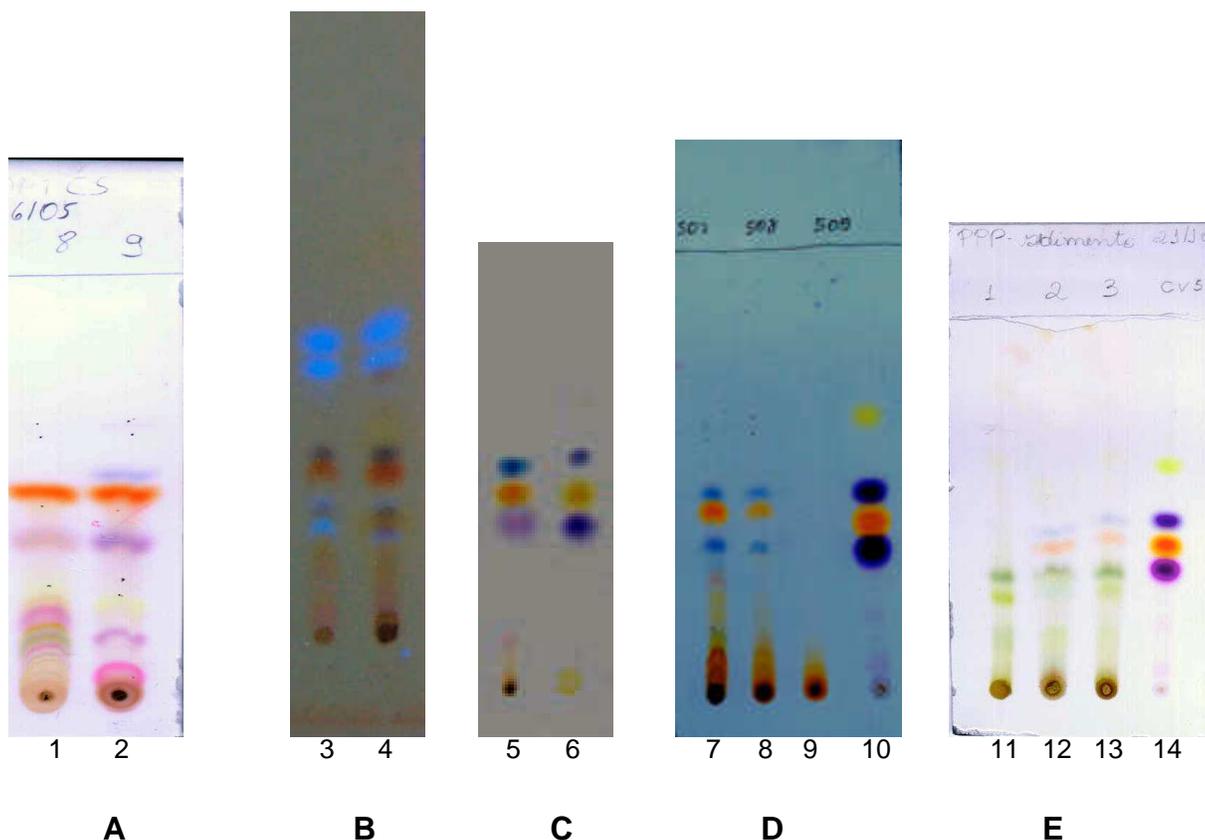


Figura 9. Cromatogramas de CCD das amostras do ribeirão dos Cristais: **A** – efluentes da indústria de tingimento – 1: efluente bruto; 2: efluente tratado; **B** – compostos fluorescentes – 3: amostra de água; 4: sedimento; **C** – 5: lodo da ETA; 6: produto comercial preto CVS; **D** – 7: água bruta no Ponto 5; 8: água pré-clorada; 9: água tratada pela ETA; 10: produto comercial preto CVS; **E** – sedimentos – 11: Ponto 1 (Córrego do Cedro); 12: Ponto 3 (ind. tingimento); 13: Ponto 5 (ETA); 14: produto comercial preto CVS.

Tabela 6. Compostos ou classes de compostos mutagênicos detectados nas análises químicas realizadas nas amostras da bacia do ribeirão dos Cristais.

Amostras	Resultados
<p>Ponto 3 – Efluente bruto da indústria de tingimento</p>	<p>CCD: Os mesmos que na água superficial na captação da ETA (Ponto 4) ^(a, b, c, e)</p> <p>CG/MS/MS: Aminas aromáticas: 2-naftilamina (grupo 1 – IARC), 2,6-dicloro-1,4-fenilenodiamina, 3,4-dimetilanilina, p-cloroanilina (banida na Comunidade Européia), p-cloro-o-toluidina (banida na Comunidade Européia), p-nitroanilina (carcinogênica para camundongos, National Toxicology Program), N-cianoetil anilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), 2,6-dicloro-4-nitroanilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), N,N-dimetilbenzenometanamina</p> <p>Outros compostos: 3-propilfenol, 2-metilfenol, p-metóxi-fenol, isoquinolina, 2-etil-quinolina, 3-metil-quinolina, 2,4-metil-quinolina, 2,5-diidro-2,5-metóxi-furano, cloreto de benzila, metanobenzeno sulfonamida, 2-oxepanona-7-hexila, metil-antranilato, hidróxi-tolueno butilado (BHT), naftalenol, 4-butil-1,2-dimetóxi-benzeno ^(a, e)</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (57.900 ng/L), CI Disperse Orange 37 (316.000 ng/L) ^(a)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Compostos mutagênicos e aminas aromáticas em função da positividade sem S9, aumento da potência com S9 e aumento da potência com linhagem superprodutora de nitro-redutase/O-acetil-transferase (YG1041) em relação à sua linhagem parental, TA98. ^(d, e)</p>
<p>Ponto 3 – Efluente tratado da indústria de tingimento</p>	<p>CCD: Os mesmos que na água superficial na captação da ETA (Ponto 4) ^(a, b, c, e)</p> <p>CG/MS/MS: Aminas aromáticas: 5-cloro-o-anisidina, 2,4,5-trimetilanilina (banido na Comunidade Européia), 2,6-dicloro-1,4-fenilenodiamina, 2,6-dicloro-4-nitroanilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), p-nitroanilina (carcinogênica para camundongos, National Toxicology Program), N-cianoetil anilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), N,N-dietil-1,4-diamino-benzeno</p> <p>Outros compostos: 4-aminofenol, 4-(1,1-dimetil-propil)-fenol, 2,5-bis (1-metil-etil) fenol, nonilfenol, metanobenzeno sulfonamida, 3-fenoxil-propanol, metil-antranilato, hidróxi-tolueno butilado (BHT) ^(a, e)</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (67.000 ng/L), CI Disperse Orange 37 (126.000 ng/L), Benzidina (47.110 ng/L e 10.870 ng/L) ^(a)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Compostos mutagênicos e aminas aromáticas em função da positividade sem S9, aumento da potência com S9 e aumento da potência com linhagem superprodutora de nitro-redutase/O-acetil-transferase (YG1041) em relação à sua linhagem parental, TA98. ^(d, e)</p>

Amostras	Resultados
Ponto 3 – Lodo da ETE da indústria de tingimento	<p>CCD: CI Disperse Orange 37 ^(e)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Compostos mutagênicos e amins aromáticas em função da positividade sem S9, aumento da potência com S9 e aumento da potência com linhagem superprodutora de nitro-redutase/O-acetil-transferase (YG1041) em relação à sua linhagem parental, TA98. ^(e)</p>
Ponto 5 – Água superficial na captação da ETA	<p>CCD: CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93, CI Disperse Orange 37, compostos fluorescentes (FC1, 2 e 3), outros corantes desconhecidos ^(b, e)</p> <p>CG/MS/MS: Aminas aromáticas: 2,6-dicloro-4-nitroanilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), N-cianoetil anilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), p-nitroanilina (carcinogênica para camundongos, National Toxicology Program), 2,4,5-trimetilanilina (banido na Comunidade Européia), 2-metil-mercaptoanilina ^(e)</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (64,9 ng/L), CI Disperse Violet 93 (11,8 ng/L), CI Disperse Orange 37 (397 ng/L)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Nitrocompostos mutagênicos prevalentemente de ação direta (resposta com S9 semelhante a sem S9 para TA98) e aumento com YG1041. Presença de compostos mutagênicos policíclicos devido a positividade com blue rayon. ^(b, d, e, f)</p>
Ponto 5 – Água tratada produzida pela ETA	<p>CCD: Nenhum composto colorido ou fluorescente detectado ^(b)</p> <p>CG/MS/MS: Aminas aromáticas: 2,6-dicloro-4-nitroanilina (amina parental do CI Disperse Orange 37), 2,4,5-trimetilanilina (banido na Comunidade Européia), 2-metil-mercaptoanilina</p> <p>Produtos secundários da desinfecção: cloral hidrato, 1,5-hexadieno-1,1,2,5,6,6-hexacloro, 2,2-dicloro cloreto de acetila</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (3,05 ng/L), CI Disperse Violet 93 (1,65 ng/L), CI Disperse Orange 37 (8,86 ng/L)</p> <p>Detecção de compostos do tipo PBTA, derivados da redução/cloração dos 3 corantes azo. Estes produtos, apesar de incolores, apresentam mutagenicidade semelhante ao corante CVS.</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Nitrocompostos mutagênicos prevalentemente de ação direta (resposta com S9 semelhante a sem S9 para TA98) e aumento com YG1041. Presença de compostos mutagênicos policíclicos devido a positividade com blue rayon. ^(b, d, e, f)</p>

Amostras	Resultados
Ponto 5 – Sedimento do ribeirão dos Cristais na captação da ETA	<p>CCD: CI Disperse Blue 373, CI Disperse Orange 37, compostos fluorescentes (FC1, 2 e 3), outros corantes desconhecidos ^(g)</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (41 ng/g), CI Disperse Violet 93 (2,38 ng/g), CI Disperse Orange 37 (27,4 ng/g) ^(g)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Compostos mutagênicos e amins aromáticas em função da positividade sem S9, aumento da potência com S9 e aumento da potência com linhagem superprodutora de nitro-redutase/O-acetil-transferase (YG1041) em relação à sua linhagem parental, TA98. ^(b, d, e, g)</p>
Ponto 5 – Lodo da ETA	<p>CCD: Os mesmos que na água superficial na captação da ETA (Ponto 4) ^(b)</p> <p>HPLC/DAD e DE: CI Disperse Blue 373 (1850 ng/g), CI Disperse Violet 93 (121 ng/g), CI Disperse Orange 37 (5440 ng/g)</p> <p>Compostos indicados pelo teste de Salmonella/microsoma: Compostos mutagênicos e amins aromáticas em função da positividade sem S9, aumento da potência com S9 e aumento da potência com linhagem superprodutora de nitro-redutase/O-acetil-transferase (YG1041) em relação à sua linhagem parental, TA98. ^(d, e, f)</p>

^a OLIVEIRA et al., 2007

^b UMBUZEIRO et al., 2005

^c LIMA et al., 2007

^d UMBUZEIRO et al., 2004

^e CETESB, 2003b

^f KUMMROW et al., 2003

^g OLIVEIRA et al., 2006a

6. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A colaboração da CETESB com diferentes instituições de ensino/pesquisa e de meio ambiente foi fundamental para a realização das análises necessárias para compreensão do problema detectado no ribeirão dos Cristais. Essa colaboração, além de gerar informações para tomada de decisão, fomentou o desenvolvimento de diferentes métodos analíticos e estratégias para avaliação da genotoxicidade de ambientes impactados com despejos de indústrias de tingimento.

As publicações em revistas científicas internacionais de bom impacto científico consolidam o grau de confiabilidade das informações geradas e do excelente nível dos técnicos da CETESB responsáveis pela execução deste projeto.

Com base nos resultados obtidos neste projeto, ações de prevenção e controle foram tomadas, levando a SABESP a construir um duto coletor para afastar os efluentes domésticos e industriais que estavam impactando a qualidade da água produzida pela ETA de Cajamar. Em 2004 a SABESP iniciou a coleta dos referidos efluentes. Esta ação levou a melhoria da qualidade da água bruta do ribeirão dos Cristais e corantes mutagênicos não foram mais detectados nas amostras de água no local de captação da ETA (ponto 4) (CETESB, 2005 e 2006). Essa ação levou à proteção da população abastecida pela referida ETA, pois a exposição aos corantes e sub-produtos da cloração dos mesmos com atividade mutagênica foi interrompida.

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Os efluentes bruto e tratado da indústria de tingimento apresentaram os componentes do corante preto (CVS): C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Orange 37 e C.I. Disperse Violet 93, dentre outros corantes. Aminas aromáticas mutagênicas, incluindo produtos de clivagem de alguns dos corantes acima mencionados e outras proibidas pela Comunidade Européia foram preliminarmente identificadas, sendo que a benzidina foi comprovadamente detectada no efluente tratado (47 ug/L). Também foram detectados compostos fluorescentes de estrutura química desconhecida.
- O tratamento de lodos ativados aplicado pela indústria não foi eficiente na remoção de corantes, aminas aromáticas e de compostos fluorescentes avaliados neste estudo. Apesar da diminuição da potência da atividade

mutagênica após o tratamento do efluente, o mesmo não foi eficiente na remoção completa da mutagenicidade.

- O efluente tratado pela indústria de tingimento, além de causar mutações de ponto, avaliadas pelo teste de Salmonella/microsoma, também foi capaz de induzir alterações cromossômicas em vegetais superiores (*Tradescantia pallida* e *Allium cepa*) e lesões pré-neoplásicas em ratos, aumentando o nível de preocupação com relação ao seu lançamento em corpo de água utilizado para abastecimento público.
- A técnica de cromatografia em camada delgada (CCD), otimizada neste estudo, mostrou-se altamente sensível para detecção de corantes. Devido a sua simplicidade e baixo custo, esta técnica é adequada para o monitoramento da presença de corantes em amostras ambientais, especialmente se associada a testes de mutagenicidade como o de Salmonella/microsoma.
- Os efluentes do presídio e galvanoplastia, bem como a água subterrânea utilizada pela indústria, não apresentaram atividade mutagênica nas condições avaliadas.
- Os corantes componentes do produto comercial preto (CVS), C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Orange 37 e C.I. Disperse Violet 93, e aminas aromáticas genotóxicas foram detectadas em todas as amostras ambientais a jusante do lançamento do efluente da indústria de tingimento e, embora em menores concentrações, na água tratada. A presença de corantes e aminas aromáticas nestas amostras explica, pelo menos parcialmente, a atividade mutagênica observada após o despejo do efluente da indústria de tingimento.
- A positividade do teste de Salmonella/microsoma com as extrações com blue rayon das amostras de água do ribeirão após o lançamento do efluente da indústria de tingimento, bem como da ETA de Cajamar, confirma que parte da mutagenicidade detectada está relacionada à presença de compostos policíclicos, provavelmente nitrocompostos e/ou aminas aromáticas, nas amostras após o lançamento do efluente da indústria de tingimento. Esse fato foi confirmado posteriormente pela presença de corantes policíclicos mutagênicos (C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Orange 37 e C.I. Disperse Violet 93).

- As amostras de água bruta do ribeirão dos Cristais captada pela ETA de Cajamar foram capazes de induzir alterações cromossômicas em vegetal superior (*Tradescantia pallida*) e em eritrócitos de camundongos, além de causar mutações de ponto, avaliadas pelo teste de Salmonella/microsossoma. Estes resultados aumentam o nível de preocupação sobre os possíveis efeitos da exposição de organismos e seres humanos a essas águas.
- A presença dos corantes e aminas aromáticas mutagênicas nas amostras de água tratada indica que a ETA de Cajamar não dispõe de tratamento eficiente para a completa remoção destes compostos. Já a presença dos sub-produtos da cloração dos corantes utilizados pela indústria de tingimento indica que a cloração, apesar de remover cor, não é um processo eficiente para remoção da mutagenicidade. Por não serem conhecidos os riscos da exposição humana a estas substâncias, ainda que em baixas concentrações, torna-se importante evitar o lançamento de efluentes de indústrias de tingimento com atividade mutagênica próximo a locais onde a água é captada e tratada com cloro para abastecimento público.

7. RECOMENDAÇÕES

É necessário o aprimoramento das tecnologias de tratamento de efluentes contendo corantes azóicos visando a sua completa degradação (mineralização). Sugere-se que a eficiência destes processos seja avaliada utilizando-se a combinação das análises químicas (CCD) e dos ensaios de mutagenicidade, como o teste de Salmonella/microsossoma. Estudos de P2 deverão ser estimulados para a diminuição do uso de corantes e outros insumos mutagênicos e separação das linhas de produção que contenham corantes para redução dos níveis de mutagenicidade dos efluentes a serem lançados nos corpos d'água.

Lodos do tratamento de indústrias de tingimento com atividade mutagênica, bem como de ETAs próximas ao lançamento de seus efluentes, devem ser classificados e destinados adequadamente, pois podem conter corantes e/ou aminas aromáticas mutagênicas e cancerígenas em concentrações variáveis.

Deve ser evitada a instalação de ETAs em locais sob influência direta de despejo de efluentes mutagênicos de indústrias de tingimento, como no caso do ribeirão dos

Cristais, a menos que tratamentos adequados para remoção destes compostos sejam realizados.

É importante que o tratamento a ser realizado pela futura ETE que irá realizar o tratamento dos despejos das indústrias do local, incluindo efluentes da indústria de tingimento avaliada neste estudo utilize técnicas adequadas, visando à remoção das substâncias mutagênicas. Caso o tratamento realizado inclua processos de cloração, esta deverá ser realizada com muito cuidado pois o mesmo poderá levar à formação de produtos incolores com atividade mutagênica igual ou maior do que a dos corantes originais.

8. REFERÊNCIAS

BRASIL, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005, Classifica os corpos d'água do Território Nacional, **Diário Oficial da União**, 18 de março de 2005.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2005**. Série relatórios CETESB, 2006.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2004**. Série relatórios CETESB, 2005.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2003**. Série relatórios CETESB, 2004.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2002**. Série relatórios CETESB, 2003a.

CETESB, São Paulo. **Study of the mutagenic activity of azo dyes processing plants effluent – which compounds should be regulated in the aquatic environment?** Relatório técnico. CETESB, 2003b.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2001**. Série relatórios CETESB, 2002.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2000**. Série relatórios CETESB, 2001.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 1999**. Série relatórios CETESB, 2000.

CETESB, São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 1998**. Série relatórios CETESB, 1999.

DEARFIELD, K.L., CIMINO, M.C., MCCARROLL, N.E., MAUER, I., VALCOVIC, L.R.
Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy, **Mutat. Res.**, 521,
121-135, 2002.

KUMMROW, F., RECH, C.M., COIMBRAO, C.A., ROUBICECK, D.A., UMBUZEIRO,
G.A. Comparison of the mutagenic activity of XAD4 and the blue rayon extracts of
surface water and related drinking water samples. **Mutat. Res.**, 541, 103-113, 2003.

UMBUZEIRO, G.A., ROUBICEK, D.A., SATO, M.I.Z., SANCHEZ, P.S. The *Salmonella*
mutagenicity assay in a surface water quality monitoring program based on a 20-year
survey, **Mutat. Res.**, 491, 119-126, 2001.

9. ANEXOS

9.1. DADOS BRUTOS DO TESTE DE SALMONELLA/MICROSSOMA

AMOSTRAS DE ÁGUA E EFLUENTE (resultados em rev/L equivalente)

Ponto 1 – Ribeirão do Cedro – ponto controle

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	ND*	ND	ND	ND	UMBUZEIRO et al., 2004
blue rayon (BR) em coluna	ND	ND	ND	ND	UMBUZEIRO et al., 2004
blue rayon (BR) concentrado <i>in situ</i> **	ND	ND	ND	ND	UMBUZEIRO et al., 2004

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

**Resultados em rev/g de blue rayon

Ponto 2 – Efluente presídio

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	NR*	NR	ND**	ND	UMBUZEIRO et al., 2004

*NR: Não realizado

**ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Ponto 3 – Água subterrânea utilizada pela ind. de tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	ND*	ND	ND	ND	UMBUZEIRO et al., 2004

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Ponto 3 – Efluente bruto indústria de tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Líquida-Líquida	17.000	160.000	1.000.000	50.000.000	UMBUZEIRO et al., 2004
	23.000	340.000	NR*	NR	UMBUZEIRO et al., 2004
	NR	NR	440.000	16.000.000	UMBUZEIRO et al., 2004

*NR: Não realizado

Ponto 3 – Efluente tratado indústria de tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Líquida-Líquida	34.000	110.000	1.000.000	5.000.000	UMBUZEIRO et al., 2004
	100.000	300.000	NR*	NR	UMBUZEIRO et al., 2004
	5.000	25.000	460.000	590.000	CETESB, 2003b
	NR	NR	150.000	3.000.000	CETESB, 2003b
	12.000	13.000	170.000	1.000.000	LIMA et al., 2007

*NR: Não realizado

Ponto 4 – Efluente galvanoplastia

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Líquida-Líquida	NR*	NR	ND**	ND	UMBUZEIRO et al., 2004

*NR: Não realizado

**ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Rib. Cristais após ind. Tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	NR*	NR	1.600	10.000	CETESB, 2003b
BR concentrado <i>in situ</i> **	ND***	1.600	2.900	49.000	UMBUZEIRO et al., 2006

*NR: Não realizado

**Resultados em rev/g de blue rayon

***ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Ponto 5 – Rib. Cristais captação ETA

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	164	207	4.700	3.800	UMBUZEIRO et al., 2004
	134	225	NR*	NR	KUMMROW et al., 2003
	269	352	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
	NR	NR	23.000	23.700	UMBUZEIRO et al., 2005/ CETESB, 2003b
	NR	NR	4.800	20.000	CETESB, 2003b
	250	630	130	2.900	CETESB, 2003b
BR em coluna	NR	NR	6.400	9.600	CETESB, 2003b
	64	40	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
	41	128	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
BR concentrado <i>in situ</i> **	300	140	7.800	16.000	CETESB, 2003b
	56	250	18.000	37.000	UMBUZEIRO et al., 2004

*NR: Não realizado

**Resultados em rev/g de blue rayon

Água pré-clorada pela ETA

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	ND*	ND	3.600	900	CETESB, 2003b
BR em coluna	ND	ND	10.000	10.800	CETESB, 2003b

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Água tratada pela ETA

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
XAD	NR*	NR	7.400	7.500	CETESB, 2003b
	NR	NR	3.800	620	CETESB, 2003b
	280	120	4.400	2.120	UMBUZEIRO et al., 2005
	217	84	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
	141	78	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
BR em coluna	430	320	20.000	11.000	UMBUZEIRO et al., 2004
	15	12	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
	21	30	NR	NR	KUMMROW et al., 2003
	NR	NR	1.900	2.100	CETESB, 2003b
	68	48	1.600	1.800	CETESB, 2003b

*NR: Não realizado

AMOSTRAS DE SEDIMENTO E LODO
(resultados em rev/g eq.)

Ponto 1 – Ribeirão do Cedro – ponto controle

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	ND*	ND	440	290	OLIVEIRA et al., 2006a

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Rib. Cristais antes ind. Tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	ND*	ND	100	242	OLIVEIRA et al., 2006a

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

Rib. Cristais após ind. Tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	ND*	ND	100	3.500	OLIVEIRA et al., 2006a
	NR**	NR	ND	44.000	CETESB, 2003b

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

**NR: Não realizado

Ponto 3 – Lodo da ETE da indústria de tingimento

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	NR*	NR	7.000	158.000	CETESB, 2003b

*NR: Não realizado

Ponto 5 – Rib. Cristais na captação da ETA

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	ND*	480	2.900	51.000	UMBUZEIRO et al., 2004
	NR**	NR	1.200	5.000	OLIVEIRA et al., 2006a
	ND	52	500	2.000	CETESB, 2003b
	NR	NR	150	18.000	CETESB, 2003b

*ND: Mutagenicidade não detectada nas condições de ensaio

**NR: Não realizado

Ponto 5 – Lodo da ETA

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	1.100	1.200	67.000	52.000	CETESB, 2003b
	NR*	NR	16.000	47.000	CETESB, 2003b/ UMBUZEIRO et al., 2005

*NR: Não realizado

Ponto 6 – Rib. Cristais no local do duto

Tipo de Extração	TA98		YG1041		Publicação do dado
	-S9	+S9	-S9	+S9	
Ultrassom	NR*	NR	390	5.900	CETESB, 2003b

*NR: Não realizado

LISTA DE ARTIGOS ANEXADOS

I. UMBUZEIRO, G.A., ROUBICEK, D.A., RECH, C.M., SATO, M.I.Z., CLAXTON, L.D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures. **Chemosphere**, 54, 1589-1597, 2004.

II. UMBUZEIRO, G.A., FREEMAN, H.S., WARREN, S.H., OLIVEIRA, D.P., TERAQ, Y., WATANABE, T., CLAXTON, L.D. The contribution of azo dyes to the mutagenicity activity of the Cristais River. **Chemosphere**, 60, 55-64, 2005.

III. OLIVEIRA, D.P., KUHLMANN, M.L., UMBUZEIRO, G.A. Evaluation of the presence of mutagenic dyes in sediments from Cristais River. **Soil & Sediment Contamination**, 15, 455-462, 2006a.

IV. MAZZO, T.M., SACZK, A.A., UMBUZEIRO, G.A., ZANONI, M.V.B. Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from a textile industry by liquid chromatographic with electrochemical detection. **Analytical Letters**, 39, 2671-2685, 2006.

V. OLIVEIRA, D.P., CARNEIRO, P.A., SAKAGAMI, M.K., ZANONI, M.V.B., UMBUZEIRO, G.A. Chemical characterization of a dye processing plant effluent – Identification of the mutagenic components. **Mutation Research**, 626, 135-142, 2007.

VI. LIMA, R.O.A., BAZO, A.P., SALVADORI, D.M.F., RECH, C.M., OLIVEIRA, D.P., UMBUZEIRO, G.A. Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. **Mutation Research**, 626, 53-60, 2007.

VII. OLIVEIRA, D.P., CARNEIRO, P.A., RECH, C.M., ZANONI, M.V.B., CLAXTON, L.D., UMBUZEIRO, G.A. Mutagenic compounds generated from the chlorination of disperse azo-dyes and their presence in drinking water. **Environ. Sci. Technol.**, 40, 6682-6689, 2006b.

VIII. UMBUZEIRO, G.A., COIMBRAO, C.A., KUMMROW, F., LOBO, D.J., SALDIVA, P.H.N. Mutagenic activity assessment of Cristais river – São Paulo, Brazil, using the blue rayon /Salmonella microsome and the Tradescantia pallida micronuclei assays. *Enviado para publicação*. 2006.

IX. CARITÁ, R., MORALES, M.A.M. “Indução de aberrações cromossômicas em sistema-teste de *Allium cepa* por efluente industrial contaminado com azocorante”. *Para ser enviado para publicação*.

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Chemosphere. 2004, 54(11):1589-97

Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures

Umbuzeiro Gde A, Roubicek DA, Rech CM, Sato MI, Claxton LD.

CETESB--Cia. Tecnologia de Saneamento Ambiental, Av. Prof. Frederico Hermann Jr., 345, 05459-900, Sao Paulo, SP, Brazil. giselav@cetesb.sp.gov.br

Abstract:

In the routine Sao Paulo state (Brazil) surface water quality-monitoring program, which includes the Salmonella microsome mutagenicity assay as one of its parameters, a river where water is taken and treated for drinking water purposes has repeatedly shown mutagenic activity. A textile dyeing facility employing azo-type dyes was the only identifiable source of mutagenic compounds. We extracted the river and drinking water samples with XAD4 at neutral and acidic pH and with blue rayon, which selectively adsorbs polycyclic compounds. We tested the industrial effluent, raw, and treated water and sediment samples with YG1041 and YG1042 and compared the results with the TA98 and TA100 strains. The elevated mutagenicity detected with YG-strains suggested that nitroaromatics and/or aromatic amines were causing the mutagenicity detected in the samples analyzed. Positive responses for the blue rayon extracts indicated that mutagenic polycyclic compounds were present in the water samples analyzed. The mutagen or mixture of mutagens present in the effluent and water samples cause mainly frameshift mutations and are positive with and without metabolic activation. The Salmonella assay combined with different extraction procedures proved to be very useful in the identification of the origin of the pollution and in the identification of the classes of chemical compounds causing the mutagenic activity in the river analyzed.

PMID: 14675838 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Chemosphere. 2005, 60(1):55-64

The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River

de Aragao Umbuzeiro G, Freeman HS, Warren SH, de Oliveira DP, Terao Y, Watanabe T, Claxton LD.

CETESB-Cia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, Av. Prof. Frederico Hermann Jr., 345, 05459-900, Sao Paulo, SP, Brazil. giselav@cetesb.sp.gov.br

Abstract:

To verify whether dyes emitted within the discharge of a dye processing plant were contributing to the mutagenicity repeatedly found in the Cristais River, Sao Paulo, Brazil, we chemically characterized the following mutagenic samples: the treated industrial effluent, raw and treated water, and the sludge produced by a Drinking Water Treatment Plant (DWTP) located approximately 6 km from the industrial discharge. Considering that 20% of the dyes used for coloring activities might be lost to wastewaters and knowing that several dyes have mutagenic activity, we decided to analyze the samples for the presence of dyes. Thin layer chromatographic analysis indicated the presence of three prevalent dyes in all samples, except for the drinking water. This combination of dyes corresponded to a commercial product used by the industry, and it tested positive in the Salmonella assay. The structures of the dye components were determined using proton magnetic resonance and mass spectrometric (MS) methods, and the dyes were tested for mutagenicity. The blue component was identified as the C.I. Disperse Blue 373, the violet as C.I. Disperse Violet 93, and the orange as C.I. Disperse Orange 37. The dyes showed mutagenic responses of 6300, 4600, and 280 revertants/microg for YG1041 with S9 respectively. A bioassay-directed fractionation/chemical analysis showed that the C.I. Disperse Blue 373 contributed 55% of the mutagenic activity of the DWTP sludge. We showed that these dyes contributed to the mutagenic activity found in the Cristais River environmental samples analyzed and are indirectly affecting the quality of the related drinking water. Therefore, we believe that this type of discharge should be more thoroughly characterized chemically and toxicologically. Additionally, human and ecological risks associated with the release of dye processing plant effluents should be more fully investigated, especially where the resultant water is taken for human consumption.

PMID: 15910902 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Soil & Sediment Contamination, 2006a, 15 (5): 455-462.

Evaluation of the Presence of Mutagenic Dyes in Sediments from Cristais River

Danielle Palma De Oliveira ¹, Mônica Luisa Kuhlmann ², Gisela De Aragão Umbuzeiro ²

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

² CETESB–Campanhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo, Brazil

Abstract:

Azo dyes are largely used by coloring textiles and can contaminate the aquatic environment, including the sediment, through their release through effluent discharges. In this work the presence of mutagenic azo dyes was evaluated using Thin Layer Chromatography in sediment samples of the Cristais River upstream and downstream of an azo dye processing plant discharge area. Mutagenicity of the sediment samples was also analyzed using the Salmonella/microsome assay with the strain YG1041 in the presence and absence of S9. Extracts of benthic organisms collected in the same area were analyzed for the presence of dyes. The dyes CI Disperse Blue 373 and CI Disperse Orange 37 as well as three unknown fluorescent compounds were detected only in the sediment samples collected downstream of the industrial discharge. Activity was detected with the Salmonella assay in the three samples analyzed but higher values were obtained after the azo dye processing plant when compared to the reference site. This effect could be partially explained by the presence of the mutagenic dyes detected, considering their mutagenic potencies. No dyes were found in the extracts of the organisms. Further studies should be performed to evaluate the fate and effects of these dyes in the sediment and in the aquatic community and their potential to be transferred to the water column.

Analytical Letters, 2006, 39: 2671–2685

Analysis of Aromatic Amines in Surface Waters Receiving Wastewater from a Textile Industry by Liquid Chromatographic with Electrochemical Detection

T. M. Mazzo¹, A. A. Saczk¹, G. A. Umbuzeiro², M. V. B. Zanoni³

¹Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, S.P, Brazil ²CETESB, Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental, Cia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo, SP, Brazil ³Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, S.P, Brazil

Address correspondence to M. V. B. Zanoni, Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Caixa Postal 355, 14801-970, Araraquara, S.P, Brazil. E-mail: boldrinv@iq.unesp.br

Abstract:

A high performance liquid chromatography (HPLC) method with electrochemical detection (ED) was developed for the determination of benzidine, 3,3- dimethylbenzidine, o-toluidine and 3,3-dichlorobenzidine in the wastewater of the textile industry. The aromatic amines were eluted on a reversed phase column Shimadzu Shimpack C18 using acetonitrile þ ammonium acetate (1 # 1024 mol L21) at a ratio 46:54 v/v as mobile phase, pumped at a flow rate of 1.0 mL min⁻¹. The electrochemical oxidation of the aromatic amines exhibits well-defined peaks at a potential range of þ0.45 to þ0.78 V on a glassy carbon electrode. Optimum working potentials for amperometric detection were from 0.70 V to þ1.0 V vs. Ag/AgCl. Analytical curves for all the aromatic amines studied using the best experimental conditions present linear relationship from 1 # 1028 mol L21 to 1.5 # 1025 mol L21, r ² 0.99965, n = 15. Detection limits of 4.5 nM (benzidine), 1.94 nM (o-toluidine), 7.69 nM (3,3-dimethylbenzidine), and 5.15 nM (3,3-dichlorobenzidine) were achieved, respectively. The detection limits were around 10 times lower than that verified for HPLC with ultra violet detection. The applicability of the method was demonstrated by the determination of benzidine in wastewater from the textile industry dealing with an azo dye processing plant.

Mutation Research, 2007, 626(1-2):135-142.

Chemical characterization of a dye processing plant effluent-Identification of the mutagenic components.

Oliveira DP, Carneiro PA, Sakagami MK, Zanoni MV, Umbuzeiro GA.

USP, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. do Café, s/n, 14040-903 Ribeirão Preto, SP, Brazil; Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Av. Lineu Prestes, 580, Bl. 13, 05508-900 São Paulo, SP, Brazil.

Abstract:

This work shows the chemical characterization of a dye processing plant effluent that was contributing to the mutagenicity previously detected in the Cristais river, São Paulo, Brazil, that had an impact on the quality of the related drinking water. The mutagenic dyes Disperse Blue 373, Disperse Orange 37 and Disperse Violet 93, components of a Black Dye Commercial Product (BDCP) frequently used by the facility, were detected by thin layer chromatography (TLC). The blue and orange dyes were quantified by high performance liquid chromatography (HPLC/DAD) in a raw and treated effluent samples and their contribution to the mutagenicity was calculated based on the potency of each dye for the *Salmonella* YG1041. In the presence of S9 the Disperse Blue 373 accounted for 2.3% of the mutagenic activity of the raw and 71.5% of the treated effluent. In the absence of S9 the Disperse Blue 373 accounted for 1.3% of the mutagenic activity of the raw and 1.5% of the treated effluent. For the Disperse Orange 37, in the presence of S9, it contributed for 0.5% of the mutagenicity of the raw and 6% of the treated effluent. In the absence of S9; 11.5% and 4.4% of the raw and treated effluent mutagenicity, respectively. The contribution of the Disperse Violet 93 was not evaluated because this compound could not be quantified by HPLC/DAD. Mutagenic and/or carcinogenic aromatic amines were also preliminary detected using gas chromatograph/mass spectrometry in both raw and treated and are probably accounting for part of the observed mutagenicity. The effluent treatment applied by the industry does not seem to remove completely the mutagenic compounds. The *Salmonella*/microsome assay coupled with TLC analysis seems to be an important tool to monitor the efficiency of azo dye processing plant effluent treatments.

PMID: 17070726 [PubMed - as supplied by publisher]

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Mutation Research, 2007, 626(1-2):53-60.

Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source.

Alves de Lima RO, Bazo AP, Salvadori DM, Rech CM, de Palma Oliveira D, de Arago Umbuzeiro G.

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brazil.

Abstract:

Recently a textile azo dye processing plant effluent was identified as one of the sources of mutagenic activity detected in the Cristais River, a drinking water source in Brazil [G.A. Umbuzeiro, D.A. Roubicek, C.M. Rech, M.I.Z. Sato, L.D. Claxton, Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures, *Chemosphere* 54 (2004) 1589-1597]. Besides presenting high mutagenic activity in the Salmonella/microsome assay, the mutagenic nitro-aminoazobenzenes dyes CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93, and CI Disperse Orange 37 [G.A. Umbuzeiro, H.S. Freeman, S.H. Warren, D.P. Oliveira, Y. Terao, T. Watanabe, L.D. Claxton, The contribution of azo dyes in the mutagenic activity of the Cristais river, *Chemosphere* 60 (2005) 55-64] as well as benzidine, a known carcinogenic compound [T.M. Mazzo, A.A. Saczk, G.A. Umbuzeiro, M.V.B. Zanoni, Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from textile industry by liquid chromatographic with eletrochemical detection, *Anal. Lett.*, in press] were found in this effluent. After approximately 6km from the discharge of this effluent, a drinking water treatment plant treats and distributes the water to a population of approximate 60,000. As shown previously, the mutagens in the DWTP intake water are not completely removed by the treatment. The water used for human consumption presented mutagenic activity related to nitro-aromatics and aromatic amines compounds probably derived from the cited textile processing plant effluent discharge [G.A. Umbuzeiro, D.A. Roubicek, C.M. Rech, M.I.Z. Sato, L.D. Claxton, Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures, *Chemosphere* 54 (2004) 1589-1597; G.A. Umbuzeiro, H.S. Freeman, S.H. Warren, D.P. Oliveira, Y. Terao, T. Watanabe, L.D. Claxton, The contribution of azo dyes in the mutagenic activity of the Cristais river, *Chemosphere* 60 (2005) 55-64]. Therefore, it is important to evaluate the possible risks involved in the human consumption of this contaminated water. With that objective, one sample of the cited industrial effluent was tested for carcinogenicity in the aberrant crypt foci medium-term assay in colon of Wistar rats. The rats received the effluent in natura through drinking water at concentrations of 0.1%, 1%, and 10%. The effluent mutagenicity was also confirmed in the Salmonella/microsome assay with the strains TA98 and YG1041. There was an increased number of preneoplastic lesions in the colon of rats exposed to concentrations of 1% and 10% of the effluent, and a positive response for both Salmonella strains tested. These results indicate that the discharge of the effluent should be avoided in waters used for human consumption and show the sensitivity of the ACF crypt foci assay as an important tool to evaluate the carcinogenic potential of environmental complex mixtures.

PMID: 17027325 [PubMed - in process]

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Environ Sci Technol. 2006, 40(21):6682-9.

Mutagenic compounds generated from the chlorination of disperse azo-dyes and their presence in drinking water.

Oliveira DP, Carneiro PA, Rech CM, Zanoni MV, Claxton LD, Umbuzeiro GA.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo,
Av. do Café, s/n, 14040-903, Ribeirão Preto, SP, Brazil. dpalma@usp.br

Abstract:

The water produced by the Cristais River Drinking Water Treatment Plant (CR-DWTP) repeatedly produced mutagenic responses that could not be explained by the presence of disinfection byproducts (DBPs) generated by the reaction of humic acids and chlorine. In order to determine the possible role of chlorinated dye products in this mutagenic activity, solutions of a black dye commercial product (BDCP) composed of C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Orange 37, C.I. Disperse Violet 93, and chemically reduced BDCP (R-BDCP) were chlorinated in a manner similar to that used by the CR-DWTP. The resulting solutions were extracted with XAD-4 along with one drinking water sample collected from the CR-DWTP. All extracts showed mutagenic activity in the Salmonella/microsome assay. Dye components of the BDCP as well as its reduced chlorinated (CI-R-BDCP) derivative were detected in the drinking water sample by analysis with a high performance liquid chromatography/diode array detector (HPLC/DAD). The mutagenicity results of these products suggest that they are, at least in part, accounting for the mutagenic activity detected in the drinking water samples from the Cristais River. The data obtained in this study have environmental and health implications because the chlorination of the BDCP and the R-BDCP leads to the formation of mutagenic compounds (CI-BDCP and CI-R-BDCP), which are potentially important disinfection byproducts that can contaminate the drinking water as well as the environment.

PMID: 17144296 [PubMed - in process]

Para obter versão completa deste trabalho, enviar e-mail para eam@cetesbnet.sp.gov.br

Aceito para publicação no JBSE - Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology, 2006

Mutagenic activity assessment of Cristais river – São Paulo, Brazil using the blue rayon/Salmonella microsome and the Tradescantia pallida micronuclei assays

Gisela A. Umbuzeiro^{a*}, Carlos A. Coimbra^a, Fábio Kummrow^{a, b}, Debora J. Lobo^c, Paulo H. N. Saldiva^c

^a CETESB - Cia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, Av. Prof. Frederico Hermann Jr., 345, 05459-900 São Paulo, Brazil

^b Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, 05508-900 São Paulo, Brazil

^c Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP, Av. Dr. Arnaldo, 455, 01246-903, São Paulo - SP, Brazil

* Corresponding autor: Gisela de Aragão Umbuzeiro, Av. Prof. Frederico Hermann Jr, 345, 05459-900, São Paulo, SP, Brazil, E-mail: giselav@cetesbnet.sp.gov.br, fax 55 11 31333982

Abstract:

Cristais River, located in the metropolitan region of São Paulo city, is used as source of drinking water and mutagenic activity was observed in the extracts obtained from its waters. This mutagenic activity was associated to a discharge of a textile dye processing plant that contains, among other mutagenic compounds, the dyes C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Violet 93 and C.I. Disperse Orange 37. The objective of this work was to assess the mutagenic activity using the blue rayon hanging technique (BR)/*Salmonella* microsome assay and the *Tradescantia*-MCN mutagenicity test exposed in the field for 24 hours before and after the discharge of the cited industrial effluent. The BR/*Salmonella* microsome assay showed to be sensitive to detect the mutagenicity, after the textile dye processing plant discharge. The Trad-MCN assay, using plant cuttings exposed directly in the river showed an increased response after the industrial discharge. Due to its simplicity and low cost, the Trad-MCN assay seems to be a good alternative for screening surface waters for mutagenic activity. Both techniques have the advantage of better represent the environmental conditions because the extraction/exposure is performed in the field during 24 hours.

A ser enviado para publicação.

Indução de aberrações cromossômicas em sistema-teste de *Allium cepa* por efluente industrial contaminado com azocorante

Caritá, R., Morales, M.A.M.

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, SP, Brasil.

Para a avaliação dos efeitos tóxicos de amostras ambientais são indicados diversos testes, dentre eles os citogenéticos. Estes testes são comumente usados para o biomonitoramento da extensão da poluição e para a avaliação dos efeitos das substâncias tóxicas e mutagênicas presentes no ambiente natural. O vegetal superior *Allium cepa* tem sido destacado como eficiente organismo-teste na indicação da presença de substâncias mutagênicas/genotóxicas devido a sua boa sensibilidade e correlação com sistemas teste de mamíferos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efluente tratado de uma indústria têxtil, lançado no ribeirão dos Cristais, quanto ao seu potencial de induzir aberrações cromossômicas e nucleares em sistemas teste de *Allium cepa*. O ribeirão tem sua água captada para abastecimento público 6km após o lançamento do efluente que contém corantes (CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93, CI Disperse Orange 37) e amins aromáticas mutagênicas para o teste de Salmonella/microsoma.

Sementes de *Allium cepa* foram submetidas à germinação em diferentes concentrações do efluente tratado (0,3%, 3%, 10% e 100%). Foram analisadas células em intérfase e em divisão para a avaliação da indução de aberrações cromossômicas e nucleares.

As duas amostras de efluente apresentaram resultados significativos quanto à indução de aberrações cromossômicas (3, 10 e 100%), formação de micronúcleos e quebras cromossômicas (10 e 100%), provavelmente devido à ação dos azocorantes (CI Disperse Blue 373, CI Disperse Violet 93 e CI Disperse Orange 37) e das amins aromáticas presentes no efluente tratado. Esses resultados são preocupantes, pois, se houver a fixação desses danos nas gerações celulares subseqüentes às divisões com erro, poderá haver um comprometimento do organismo como um todo e até mesmo da biota associada ao local de recebimento do efluente.