Caracterização da Mutagenicidade

de extratos aquosos e orgânicos de lodos tratados de cinco estações de tratamento de esgoto (ETE) localizadas no Estado de São Paulo

Fábio Kummrow - Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Av. Prof. Artur de Sá, S/N, 50740-021 – Recife - PE, Brasil. E-mail: fkummrow@gmail.com

Renata S. L. Martins - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN, Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, 05508-000, São Paulo-SP, Brasil;

Camila M. Lelis – Curso de Especialização em Qualidade e Produtividade - Fundação Vanzolini, Av. Prof. Luciano Gualberto, travessa 3, 380, 05508-970, São Paulo-SP, Brasil.

Célia M. Rech - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB, Av. Prof. Frederico Hermann Jr., 345, 05459-900, São Paulo - SP, Brasil.

Marcus E. M. da Matta - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, Av. Dr. Arnaldo, 455, 01246-903 - São Paulo - SP, Brasil.

Gisela A. Umbuzeiro - Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Rua Paschoal Marmo, 188, 13484-332 - Limeira, São Paulo - SP, Brasil.

Resumo

Compostos mutagênicos podem estar presentes nos diferentes tipos de efluentes recebidos pelas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) ou serem formados durante o processo de tratamento. O lodo gerado, mesmo após digestão pode conter quantidades variadas desses compostos, que tem estrutura química e toxicologia muitas vezes desconhecida. Para conhecimento da periculosidade dessas amostras é essencial a sua avaliação por meio de testes de mutagenicidade. O teste de Salmonella/microssoma, também conhecido como teste de Ames, vem sendo o ensaio mais amplamente utilizado para avaliar amostras ambientais. Suas principais vantagens são: a sensibilidade, simplicidade, rapidez e custo relativamente baixo, quando comparado com ensaios de mutagenicidade com roedores. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a mutagenicidade de amostras de lodos tratados gerados em cinco ETE localizadas no Estado de São Paulo por meio do teste Salmonella/microssoma em duas campanhas de amostragem. Extratos orgânicos (diclorometano/metanol) e aquosos das amostras de lodo foram testados usando as linhagens de *S. typhimurium* TA98 e TA100 que detectam diferentes tipos de compostos mutagênicos. Os testes foram realizados na presença e na ausência de ativação metabólica (mistura S9), simulando parte da metabolização que ocorre no fígado dos mamíferos. Os extratos aquosos das amostras apresentaram resultados negativos para o teste. Para os extratos orgânicos pelo menos uma amostra de cada ETE apresentou atividade mutagênica. Os valores máximos foram obtidos para a TA98, 88 e 250 rev./mg de MOE na presença e na ausência de S9 respectivamente. Os dados obtidos foram comparados com solos urbanos da região metropolitana de São Paulo e com dados de solo de diferentes cidades. Os dados demonstram que a mutagenicidade das amostras de lodo variaram de acordo com as ETE e com as diferentes campanhas, fato que pode estar relacionado com as diferenças nas características dos efluentes tratados nas ETE e/ou ao tipo de tratamento aplicado.

Palavras-chave: Lodo de esgoto, mutagenicidade, teste Salmonella/microssoma

Abstract

Mutagenic compounds can be present in the several types of effluent that are treated by Sewage Treatment Plants (STPs) or they can be formed during the treatment process. The sludge generated in this process can contain, even after treatment, variable amounts of these compounds, with chemical structure and toxicological properties sometimes unknown. In order to learn about the toxicity of these samples it is necessary to evaluate them using mutagenicity assays. The assay Salmonella/microsome, also known as Ames test, has been the most applied assay to evaluate environmental samples. The main advantages are simplicity, sensitivity, relative low cost when compared to assays performed with rodents. The objective of the present work was to characterize the mutagenicity of treated sludge samples produced by 5 different STPs located in São Paulo State using the Salmonella/microsome assay in two sampling campaigns. Organic extracts (dichloromethane/methanol) and aqueous extracts of sludge samples were tested with the strains of *S. typhimurium* TA98 e TA100 which are able to detect different types of mutagens. The assays were performed in the absence and presence of metabolic activation system (S9), simulating rodent liver activity. The aqueous extracts presented negative responses. For the organic extracts, at least one sample of each STP showed a positive response. The maximum potencies obtained with TA98 were 88 e 250 rev./mg of EOM in the absence and presence of S9 respectively. Potencies were compared to the mutagenicity of urban soils collected in protected areas of the metropolitan São Paulo region and with soils from other cities. The mutagenic activity of the sludge samples varied according the STPs and the sampling period, what could be related to the characteristics of the treated effluents and/or the type of treatment.

Key words: Sewage sludge, mutagenicity, Salmonella/microsome assay

Introdução

O lodo gerado em ETE é rico em nutrientes essenciais e matéria orgânica podendo ser utilizado como fertilizante ou condicionador de solos, porém o mesmo pode conter também uma grande variedade de compostos tóxicos, além de patógenos (BARBOSA; TAVARES-FILHO, 2006; SINGH; AGRAWAL, 2008). Nesse contexto é necessário o desenvolvimento de estratégias adequadas para a avaliação da sua periculosidade. No Brasil, a Resolução CONAMA N° 375 (BRASIL, 2006), define os critérios para a utilização agrícola de lodos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário, não sendo aplicada a lodos de origem industrial. Porém é importante lembrar que raramente os sistemas urbanos de coleta e tratamento de esgotos transportam somente esgoto doméstico. Efluentes industriais, águas pluviais e outros tipos de águas residuárias são freqüentemente tratados nas mesmas ETE (SINGH; AGRAWAL, 2008). Além disso, os efluentes domésticos podem conter grande variedade de produtos domissanitários, praguicidas de uso doméstico, solventes, medicamentos, entre outros, que se não tratados adequadamente podem ser transferidos tanto para a fase líquida ou sólida resultante do processo de tratamento (SCHOWANEK et al., 2004; SINGH; AGRAWAL, 2008).

Os compostos químicos constituem um grupo de interesse e devem ser constantemente monitorados, em função dos riscos ao homem, aos animais e as plantas associados a sua presença no lodo. Normalmente esses compostos são divididos, para fins de estudo, em metais e compostos orgânicos (ROCHA; SHIROTA, 1999). A presença dos metais tem recebido grande atenção, particularmente porque esses não são degradados e quando o lodo é utilizado por longos períodos, como fertilizante em solos agrícolas, a sua presença pode comprometer a produtividade da área e a segurança dos alimentos nela produzidos (FJÄLLBORG; GUSTAFSSON, 2006). Em lodo compostado, de estações de tratamento de esgoto doméstico instaladas no Brasil, os metais Fe, Mn, Cu, Cd, Co, Cr, Ni e Pb são frequentemente encontrados (PÉREZ et al., 2007).

Devido a grande variedade de classes de compostos orgânicos e seus respectivos produtos de transformação biótica e abiótica passíveis de serem encontrados nos lodos, é necessários que uma lista de compostos prioritários seja definida. Cada país, ou região deve definir os seus compostos prioritários em função do uso, presença nos lodos, persistência e grau de toxicidade. Na União Européia e nos Estados Unidos da América estão sendo considerados como prioritários, entre outros, os seguintes compostos ou classes de compostos: bis(dietilhexil)ftalato (DEHP), dibenzo-*p*-dioxinas policloradas e furanos (PCDD/Fs), nonilfenóis (NP), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), bifenilas policloradas (PCBs), alquilbenzenos sulfonados lineares (LAS), nitrosaminas e praguicidas (ABAD et al., 2005; HARRISON et al., 2006; LATURNUS et al., 2007).

A ecotoxicidade de resíduos tais como o lodo de esgoto, pode ser estimada por meio de análises químicas e bioensaios (WILKE et al., 2008). É muito difícil avaliar a toxicidade do lodo apenas com base na determinação química de poluentes prioritários, e por isso o uso de bioensaios se torna necessário (KAPANEN; ITÄVAARA, 2001). Devido à variedade da composição química dos efluentes tratados nas ETE existe grande possibilidade de que compostos genotóxicos e/ou mutagênicos estejam presentes no lodo (MATHUR et al., 2007). Entre as alternativas para avaliação de genotoxicidade, o teste de Salmonella/microssoma vem sendo o mais amplamente utilizado para analisar amostras ambientais, por exemplo, para solos 37,6 % dos estudos disponíveis na literatura utilizam esse teste

(WHITE; CLAXTON, 2004). Entre os motivos que tornam esse teste tão freqüentemente utilizado estão: a sua sensibilidade, simplicidade, rapidez e custo relativamente baixo, podendo ser utilizado para testar amostras de resíduos sólidos, solos, lodos de esgoto e sedimentos, entre outros tipos de amostras (KAPANEN; ITÄVAARA, 2001; MATHUR et al., 2007). Mathur et al. (2007) sugerem que o teste Salmonella/microssoma seja aplicado como um teste inicial de triagem para avaliar a possibilidade da aplicação do lodo em solos. Nesse contexto o objetivo desse trabalho foi caracterizar a mutagenicidade de amostras de lodos tratados gerados em cinco estações de tratamento, localizadas no Estado de São Paulo, por meio do teste Salmonella/microssoma em duas campanhas de amostragem.

Metodologia

2.1. Amostragem

Foram selecionadas 5 ETE que utilizam diferentes processos de tratamento bem como estão inseridas em bacias hidrográficas distintas, o que contribui para as diferenças entre os lodos gerados por cada uma delas. ETE **PCJ-1** – trata esgoto urbano e industrial, principalmente de indústrias têxteis e tinturarias. ETE **PCJ-2** – trata aproximadamente efluente 40% urbano e 60% industrial (indústrias de fiação, compensado, alimentos e bebidas). ETE **AT-1** – trata esgoto urbano de região metropolitana de São Paulo. ETE **AT-2** – trata esgoto urbano de várias cidades e efluentes industriais (indústrias químicas, de medicamentos, metalúrgica e de corantes) em proporções variadas. ETE **SG** – trata esgoto predominantemente urbano e efluentes industriais pré-tratados. As principais características dos processos de tratamento das ETE estudadas estão descritas na Tabela 1.

TABELA 1
Principais características processo de tratamento das cinco ETE avaliadas nesse estudo.

	Processo de tratamento		
ETE	**Fase líquida**	**Fase sólida**	**Adjuvantes**
PCJ-1	Filtro biológico	Digestor, centrífuga e leito de secagem	Polímero
PCJ-2	Lagoas aeradas e lagoas de sedimentação	Centrífuga e secagem ao ar em leiras com revolvimento	Polímero
AT-1	Lodo ativado convencional	Digestor, filtro prensa	Polímero e $FeCl_3$
AT-2	Lodo ativado convencional	Digestor, filtro prensa	$FeCl_3$ e Cal
SG	Lodo ativado convencional	Digestor, Filtro prensa	Polímero e $FeCl_3$

Além das amostras de lodo foram coletadas 3 amostras de solo urbano da região metropolitana da São Paulo, em áreas protegidas (**SU-1**, **SU-2** e **SU-3**). Nas duas campanhas de coleta realizadas as amostras de lodo e solo foram coletadas com o auxílio de uma pá, o material coletado foi acondicionado em sacos plásticos atóxicos, o transporte foi realizado à temperatura ambiente e o armazenamento a 4 ºC.

2.2. Preparo das Amostras

Foram preparados extratos aquosos (solubilizados) e extratos orgânicos tanto das amostras de lodo como de solo. Todas as amostras foram processadas antes do prazo de 14 dias visando garantir a sua integridade. Os extratos aquosos foram obtidos através do procedimento descrito por Matthews e Hastings (1987) com pequenas alterações. Foram pesadas 100 g de amostra de lodo *"in natura"* e a ela adicionada 400 mL de água ultra pura. O solubilizado foi disposto em recipiente de polietileno e submetido à agitação em "*Tumbler*" (45 rpm) durante 22 horas. Após agitação, a solução foi centrifugada por 30 minutos a 3500 rpm e posteriormente, filtrada em microfibra de vidro AP20 (Millipore).

Para obtenção dos extratos orgânicos as amostras foram secas a temperatura de 45 ºC. em estufas com sistema de exaustão apropriado. A umidade da amostra (%) foi calculada pela diferença entre o peso inicial e após a amostra ter atingido peso constante na etapa de secagem. Após secagem todas as amostras foram trituradas manualmente com auxílio de grau e pistilo e 50 g transferidas para um béquer contendo 150 mL de solução de diclorometano/ metanol (DCM/Met) (2,5:1 v/v). Essa mistura foi ultrasonicada por 10 minutos e o sobrenadante transferido para um erlenmeyer. Este procedimento foi repetido mais duas vezes e então, os extratos combinados foram filtrados em membrana de teflon de 0,5 µm (Millipore). O filtrado foi completamente seco em evaporador rotatório a 45 ºC, resuspendido em 50 mL de DCM/Met (2,5:1 v/v). O protocolo de extração das amostras que continham alto teor de matéria orgânica foi alterado de modo que se evitasse uma possível saturação da solução extratora.

Alíquotas dos extratos necessárias para execução do teste foram separadas e volumes adequados de Dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados. A retirada dos solventes DCM/Met foi realizada através da secagem em fluxo lento de nitrogênio gás.

2.3. Teste Salmonella/ microssoma

Foram empregados os métodos denominados direto (para os extratos aquosos) e em pré-incubação (para os extratos orgânicos) com as linhagens de *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 com e sem ativação metabólica (mistura S9). Em alguns testes a TA100 foi substituída pela sua derivada YG1042, que apresenta maior sensibilidade para nitro e aminas aromáticas (HAGIWARA et al., 1993). Foram realizados experimentos dose resposta e foram incluídos controles negativos e positivos em cada ensaio. As doses foram testadas em triplicata. O método direto foi realizado de acordo com o protocolo descrito pelo Coriel Institute for Medical Research (1986). Nesse método doses máximas de 2 mL de extrato aquoso são testados por placa .O protocolo de pré-incubação empregado foi realizado de acordo com Umbuzeiro e Vargas (2003). Nesse caso a dose máxima testada foi de 500 mg equivalentes de lodo por placa. Os resultados dos testes foram analisados estatisticamente utilizando-se o programa Salanal e os resultados obtidos foram expressos em revertentes/ mg de matéria orgânica extraída (MOE) e também em revertentes/g equivalente de lodo em base seca.

Resultados e Discussão

Nesse trabalho foram utilizadas as linhagens de *S. typhimurium* TA98 e TA100 na ausência e presença do sistema de ativação metabólica S9, as quais detectam compostos químicos que causam mutações do tipo deslocamento no quadro de leitura e substituição de pares de bases no DNA, respectivamente. A combinação dessas duas linhagens vem sendo a mais empregada para a avaliação da mutagenicidade de amostras ambientais (WHITE; CLAXTON, 2004), devido a sua comprovada sensibilidade na detecção da maioria dos mutágenos ambientais (HOPKE et al., 1982). Essas linhagens são muito sensíveis aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), nitroarenos e aminas aromáticas, agentes alquilantes, aldeídos e alguns metais (WHITE; CLAXTON, 2004), compostos estes já encontrados em amostras de lodo de esgoto.

Para os extratos aquosos testados em doses máximas de 2 mL, as amostras da primeira campanha foram negativas, mas foram observados indícios de mutagenicidade para as amostras coletadas na ETE **AT-2**. Na segunda campanha foram observados também apenas resultados negativos, porém a amostra coletada na ETE **AT-2** apresentou toxicidade aguda para a linhagem TA98 na ausência e na presença de S9, não permitindo a

observação de um possível efeito genotóxico.

Já para os extratos orgânicos, pelo menos uma amostra de cada uma das ETE estudadas apresentou resultados positivos, provavelmente devido a concentração que ocorre durante o processamento da amostra (Tabela 2). A amostra da segunda campanha da ETE **AT-2** apresentou as maiores potências mutagênicas, 88 e 250 rev./mg de MOE para a linhagem TA98, na ausência e presença de S9 respectivamente. Esta amostra foi justamente a que apresentou indícios de mutagenicidade quando extratos aquosos foram avaliados. Para a TA100 os resultados foram negativos exceto quando sua derivada YG1042 foi utilizada. Nesse caso, as maiores potências observadas foram 40 e 18 rev./mg de MOE, na ausência e presença de S9 respectivamente, para amostra da segunda campanha da ETE **SG** (Tabela 2). Observa-se então que os lodos das diferentes ETE podem diferentes tipos de compostos mutagênicos e as potências variam de acordo com as campanhas de coleta e com o as ETE estudadas.

Hopke et al. (1982) observaram resultados negativos quando testaram o sobrenadante de amostras de lodo bruto centrifugado frente às linhagens TA98 e TA100. Já os extratos orgânicos das fases sólidas desses lodos, obtidos com acetona e hexano, apresentaram mutagenicidade, mas somente na presença de ativação metabólica (S9) para ambas as linhagens. Os resultados obtidos no estudo de Hopke et al. (1982) foram similares àqueles obtidos neste trabalho em relação às potências observadas. Com base nesses resultados podemos sugerir que os compostos genotóxicos presentes em amostras de lodo são orgânicos e provavelmente de baixa polaridade tendo em vista que se encontravam principalmente aderidos às partículas sólidas desse material.

Em 1984, também Hopke et al. avaliaram o lodo de ETE de cinco cidades localizadas no estado norte americano de Illinois. Nesse estudo a fração aquosa não foi avaliada e os extratos orgânicos foram testados integralmente e após fracionamento. As amostras de lodo coletadas nas cidades de Chanpaign, Hinsdale e Kankakee apresentaram atividade mutagênica para a linhagem TA100 na ausência de S9 e essa atividade sofreu drástica redução na presença de S9 demonstrando que os mutágenos sofreram detoxificação por ação do S9. Menor atividade mutagênica foi observada para a linhagem TA98 (HOPKE et al., 1984) o que difere dos dados deste nosso estudo.

Babish et al. (1983) testaram amostras de lodo de 34 cidades norte americanas com o ensaio Salmonella/microssoma utilizando as linhagens TA1535, TA100, TA1538, TA1537 e TA98 na ausência e presença de S9. As amostras foram secas e extraídas com diclorometano. Das 34 amostras avaliadas 33 apresentaram resultados positivos para pelo menos uma das linhagens utilizadas e 12 foram positivas para duas ou mais linhagens. Das amostras positivas 76% necessitaram ativação metabólica (S9) para manifestar sua atividade mutagênica, 18% apresentaram atividade na presença e na ausência de S9 e 6 % apresentaram atividade apenas na ausência de S9. A linhagem que apresentou maior sensibilidade aos mutágenos presentes nessas amostras foi a TA100. Babish et al. (1983) não encontraram associação entre a porcentagem de efluentes industriais tratados nas diversas estações onde o lodo foi coletado com a atividade mutagênica observada. No estudo conduzido por Ottaviani et al. (1993) A amostras de lodos digeridos de ETE, provenientes de cidades italianas, não apresentaram atividade mutagênica para as linhagens TA98 e TA100 na ausência e presença de S9. Aparentemente se haviam mutágenos nessas amostras de lodo a etapa de digestão utilizada foi capaz de inativá-los a níveis em que ensaio não foi capaz de detectar.

No presente estudo, a linhagem TA98 se mostrou a mais sensível. Embora a maior potência tenha sido observada na presença de S9, a maioria das

respostas positivas foi verificada na ausência de S9. Ao contrário dos resultados obtidos por Babish et al. (1983), neste estudo, não foram observadas respostas positivas para a linhagem TA100 (Tabela 2). Para os extratos das amostras em que a linhagem TA100 foi substituída pela sua derivada YG1042 foram observados resultados positivos para duas amostras na ausência de S9 (amostras das ETE **AT-1** e **SG**). Esse dado pode indicar a possível presença de nitro-compostos nas amostras avaliadas, tendo em vista a maior sensibilidade desta linhagem a essa classe química. O lodo coletado na ETE **AT-2**, que trata efluentes domésticos e de setores indústrias variados, incluindo indústrias químicas, de medicamentos e de corantes, apresentou as maiores potências, resultado que parece estar associado ao tipo de efluentes que são tratados nessa ETE.

As potências das amostras obtidas neste estudo foram comparadas com as potências mutagênicas descritas por White e Claxton (2004), para amostras de solo, em um trabalho de revisão onde foram apresentados valores médios, máximos e mínimos para solos rurais, urbanos e industriais (Figura 1). Para a linhagem TA98 na ausência de S9 todas as ETE, exceto a **AT-1**, apresentaram potencias mutagênicas na mesma faixa dos solos urbanos e industriais e a ETE **SG** apresentou potência inferiores dos solos de referência. Na presença de S9 a amostra da ETE **AT-2** apresentou potência na mesma faixa de solos industriais e a amostra da ETE **PCJ-1** na faixa dos solos rurais. Os solos de referência avaliados nesse estudo, para a linhagem TA98 na ausência e na presença de S9, apresentaram potências similares aos valores encontrados para solos rurais (White; Claxton, 2004).

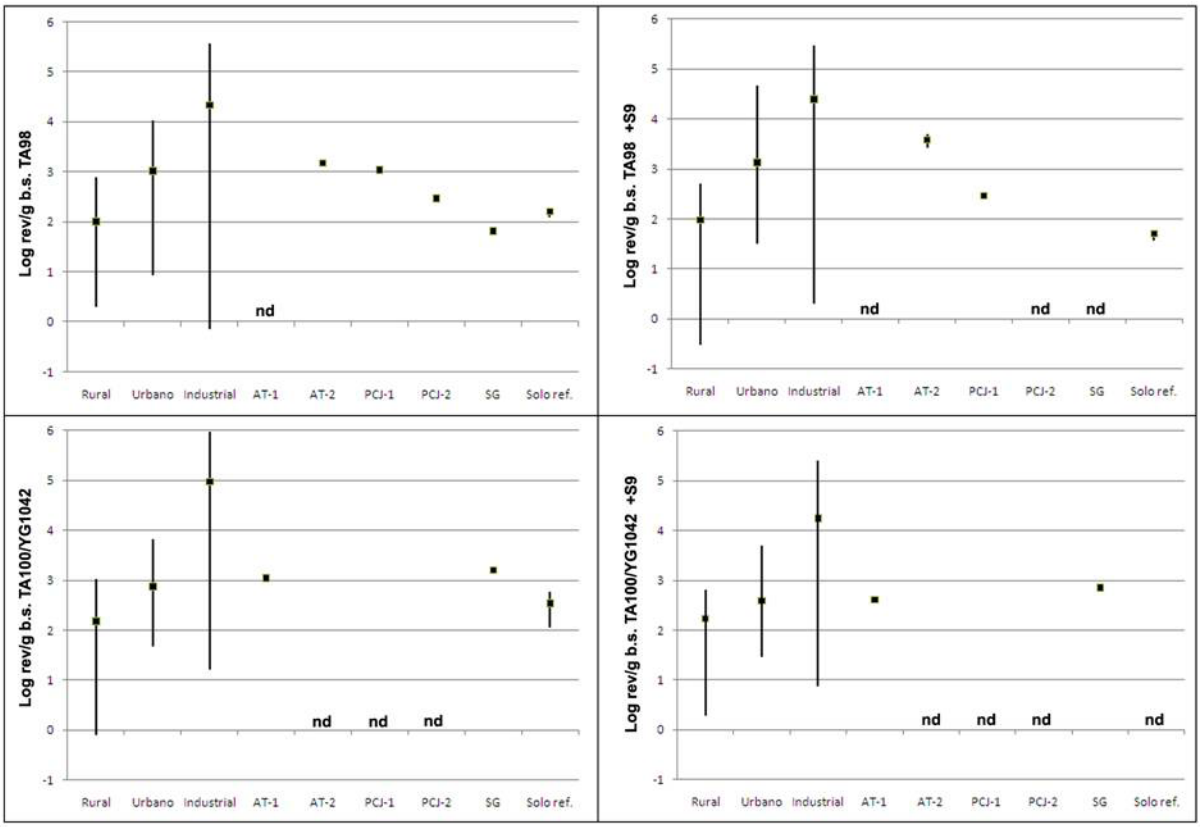
Para a linhagem TA100/YG1042 na ausência de S9 as ETE **SG** e **AT-1** apresentaram atividade mutagênica na mesma faixa de potência de solos urbanos (White; Claxton, 2004) (Figura 1). Na presença de S9 as ETE **AT-1** e **SG** também apresentaram atividade mutagênica na mesma faixa de potência de solos urbanos (White; Claxton, 2004). Para os solos de referência não foram observadas respostas mutagênicas na presença de S9 e na ausência sua potência foi compatível com aquelas observadas para os solos urbanos (White; Claxton, 2004).

TABELA 2
Resultados do teste Salmonella/microsoma obtidos pelo método de pré-incubação (dose resposta) para os extratos orgânicos das amostras de lodo e solo expressos em número de revertentes/mg de matéria orgânica extraída (MOE).

		TA98		TA100/YG1042*	
ETE/Solo	**Campanha**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**
AT-1	1	ND	ND	21*	8*[IM]
	2	ND	ND	ND	ND
AT-2	1	35	70	ND[c]	ND[c]
	2	88	250	ND	ND
PCJ-1	1	17[a]	4	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
PCJ-2	1	ND[a]	ND	ND*	ND*
	2	11[IM]	ND	ND	ND
SG	1	2[IM]	ND	40*	18*[IM]
	2	4[IM]	ND	ND[b]	ND
SU-1	1	125	44	ND	ND
SU-2	1	105	32[IM]	509	ND
SU-3	2	132	38[IM]	86[IM]	ND

IM - Indícios de Mutagenicidade; ND: atividade mutagênica não detectada; * - Realizado com YG1042 em substituição a TA100; a - tóxico a partir de 50 mg equivalentes; b - tóxico a partir de 200 mg equivalentes; c - tóxico a partir de 400 mg equivalentes.

FIGURA 1
Comparação das médias dos resultados obtidos nesse estudo, por meio do teste Salmonella/ microssoma, com os resultados apresentados no artigo de revisão de White e Claxton (2004) para solos rurais, urbanos e industriais. ND: atividade mutagênica não detectada.



Conclusões

Podemos concluir que a atividade mutagênica das amostras de lodo varia de acordo com as ETE e com as campanhas de amostragem. Essas diferenças podem estar relacionadas tanto às características dos efluentes tratados nas diferentes estações, bem como devido ao tipo de tratamento/digestão utilizado. Para melhor entender essa variação outras campanhas deverão ser realizadas bem como análises químicas deverão ser conduzidas para se elucidar quais compostos poderiam ser os responsáveis pela atividade mutagênica detectada, especialmente nas ETE onde foram observados as maiores potências mutagênicas (**AT-2** e **PCJ-1**). Apesar de mutagênicas, as potencias observadas estão próximas as da maioria dos lodos testados em outras cidades ao redor de mundo e que as de solos de diferentes origens. Também seria importante verificar se efeitos mutagênicos ocorrem também em testes com outros organismos que detectam outros tipos de danos ao material genético como, por exemplo, micronúcleos e quebras cromossômicas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Carlos Alberto Coimbrão, Walace Soares, Áurea Cruz, Mara Gaeta, Samira Issa e Paulo Fernandes Rodrigues que auxiliaram em diferentes etapas deste trabalho inclusive na realização de coletas, preparo de amostras e parte das análises. Este trabalho não reflete necessariamente o ponto de vista da Cetesb e não deve ser tratado como documento oficial da agência.

Referências

ABAD, E.; MARTÍNEZ, K.; PLANAS, C.; PALACIOS, O.; CAIXACH, J.; RIVERA, J. Priority organic pollutants assessment of sludges for agricultural purposes. **Chemosphere**, v. 61, p. 1358-1369, 2005.

BABISH, J. G.; JOHNSON, B. E.; LLSK, D. J. Mutagenicity of municipal sewage sludge of American cities. **Environmental Science & Technology**, v. 17, n. 5, p. 272-277, 1983.

BARBOSA, G. M. C.; TAVARES-FILHO, J. Uso agrícola do lodo de esgoto: influência nas propriedades químicas e físicas do solo, produtividade e recuperação de áreas degradadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, p. 565-579, 2006.

[BRASIL]. **Resolução CONAMA n°. 375 de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. D. O. U., 2006, 29 ago.

CORIEL INSTITUTE FOR MEDICAL RESEARCH. Ames Salmonella mutagenicity assay protocol. Camden, NJ: Department of Microbiology, **CIMR**, 1986, p.13.

FJÄLLBORG, B.; GUSTAFSSON, N. Short-term bioassay responses to sludge products and leachate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 51, p. 367-376, 2006.

HAGIWARA, Y.; WATANABE, M.; ODA, Y.; SOFUNI, T.; NOHMI, T. Specificity and sensitivity of *Salmonella typhimurium* YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and acetyltransferase activity. **Mutation Research**, v. 291, p. 171-180, 1993.

HARRISON, E.Z., OAKES, S. R.; HYSELL, M.; HAY, A. Organic chemicals in sewage sludges. **Science of the Total Environment**, v. 367, p. 481-497, 2006.

HOPKE, P.K.; PLEWA, M. J.; STAPLETON, P. L.; WEAVER, D. L. Comparison of the mutagenicity of sewage sludge. **Environmental Science & Technology**, v. 18, n 12, p. 909-916, 1984.

HOPKE, P.K.; PLEWA, M. J.; JOHNSTON, J. B.; WEAVER, D.; WOOD, S. G.; LARSON, R. A.; HLNESLY, T. Multitechnique screening of municipal sewage sludge for mutagenic activity. **Environmental Science & Technology**, v. 16, n. 3, p. 140-147, 1982.

KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 49, p. 1-16, 2001.

LATURNUS, F.; von ARNOLD, K.; GRØN, C. Organic Contamination from sewage sludge applied to agricultural soils – False alarm regaeding possible problem for food safety? **Environmental Science & Pollution Research**, v.14, n. 1, p. 53-60, 2007.

MATHUR, N.; BHATNAGAR, P.; MOHAN, K.; BAKRE, P.; NAGAR, P.; BIJARNIA, M. Mutagenic evaluation of industrial sludge from common effluent treatment plant. **Chemosphere**, v. 67, p. 1229-1235, 2007.

MATTHEWS, J. E.; HASTINGS, L. Evaluation of Toxicity Test Procedure for Screening Treatability Potencial of Waste in Soil. **Toxic. Assess.: Int. Quarterly**, v. 2, p. 265-281, 1987.

OTTAVIANI, M.; CREBELLI, R.; FUSELLI, S.; LA ROCCA, C.; BALDASSARRI, L. T. Chemical and mutagenic evaluation of sludge from a large wastewater treatment plant. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 26, p. 18-32, 1993.

PÉREZ, D.V.; ALCANTARA, S.; RIBEIRO, C. C.; PEREIRA, R. E.; FONTES, G. C.; WASSERMAN, M. A.; VENEZUELA, T. C.; MENEGUELLI, N. A.; MACEDO, J. R.; BARRADAS, C. A. A. Composted municipal waste effects on chemical properties of a Brazilian soil. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 525-533, 2007.

ROCHA, M. T.; SHIROTA, R. Disposição final de lodo de esgoto. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 1, n. 3, p. 1-25, 1999.

SCHOWANEK, D.; CARR, R.; DAVID, H.; DOUBEN, P.; HALL, J.; KIRCHMANN, H.; PATRIA, L.; SEQUI, P.; SMITH, S.; WEBB, S. A risk-based methodology for deriving quality standards for organic contaminants in sewage sludge for use in agriculture – Conceptual Framework. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 40, p. 227-251, 2004.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risk of land application of sewage sludge. **Waste Management**, v. 28, p. 347-358, 2008.

UMBUZEIRO, G.A.; VARGAS, V.M.F. **Teste de mutagenicidade com *Salmonella typhimurium* (Teste de Ames) como indicador de carcinogenicidade em potencial para mamíferos**. In RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E.K. Mutagênese Ambiental. Canoas: Ed. ULBRA, p. 81-112, 2003.

WHITE, P. A.; CLAXTON, L. D. Mutagens in contaminated soil: a review. **Mutation Research**, v. 567, p. 227-345, 2004.

WILKE, B. M.; RIEPERT, F.; KOCH, C.; KÜHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, p. 283-293, 2008.