

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

GENI PORTELA RADOLL

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE EM EFLUENTES LÍQUIDOS DA
INDÚSTRIA FRIGORÍFICA**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA
2013

GENI PORTELA RADOLL

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE EM EFLUENTES LÍQUIDOS DA
INDÚSTRIA FRIGORÍFICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Aurélio Pagioro
Co-Orientadores: Prof^ª. Dr^ª. Wanessa A. Ramsdorf
Prof. Dr. Flávio Bentes Freire

CURITIBA
2013



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação – Câmpus Curitiba
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Civil



TERMO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO N.º 39

AVALIAÇÃO DE GENOTOXIDADE EM EFLUENTES LÍQUIDOS DA INDÚSTRIA FRIGORÍFICA.

POR

GENI DE FATIMA PORTELA RADOLL

Esta dissertação foi apresentada às 08:30 do dia 17 de dezembro de 2013, como requisito parcial para a obtenção do título de **MESTRE EM ENGENHARIA CIVIL**, área de Meio Ambiente, Linha de pesquisa Sustentabilidade e Recursos Hídricos, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado (aprovado / reprovado)

Prof. Dr. Thomaz Aurelio Pagioro
(Orientador - UTFPR)

Profa. Dra. Karina Querne de Carvalho Passig
(UTFPR)

Prof. Dr. Miguel Mansur Aisse
(UTFPR)

Prof. Rodrigo Eduardo CATAI,
COORDENADOR DO PPGEC.
UTFPR - Câmpus Curitiba

Viso da Coordenação:

Prof. Dr. Rodrigo Eduardo Catai
Coordenador do PPGEC

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Thomaz Aurélio Pagioro, Flávio Bentes Freire e a Professora Dra. Wanessa A. Ramsdorf, por terem me orientado neste trabalho, de forma segura, firme e de muito bom senso. Meu muito obrigado pelo incentivo, dedicação e diretrizes dadas, sem as quais o presente trabalho não teria chegado a esta etapa.

Aos colegas do Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e de Saneamento da UTFPR pelas trocas de experiências, ideias e momentos de descontração.

Agradeço as duas empresas que abriram suas instalações para a coleta de efluente para a realização desta pesquisa.

E, finalmente, agradeço minha família pela paciência e compreensão pela minha ausência.

A Deus meu protetor.
Aos meus pais pela minha vida.

RESUMO

A degradação da qualidade da água pelo despejo de efluentes líquidos industriais, mesmo que tratados em algum grau, vem afetando a saúde dos organismos do meio aquático, inclusive podendo afetar a saúde dos seres humanos, caracterizando um problema ambiental de escala global. Os efluentes líquidos provenientes das indústrias alimentícias A e B, objeto do presente estudo, com reconhecido potencial genotóxico, são fortes contribuintes desse processo de degradação e mesmo assim, são somente fiscalizados através de análises físicas e químicas. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar o sistema de tratamento de efluentes líquidos de duas empresas de alimentos e seus efeitos genotóxicos em *Astyanax sp* (lambari). Os peixes foram expostos aos efluentes líquidos pré e pós-tratamento, bem como, a montante e a jusante do lançamento. A genotoxicidade foi avaliada segundo a técnica do ensaio cometa e teste do micronúcleo písceo. Foram analisados os parâmetros físicos, químicos e biológicos dos efluentes: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade total, ácidos voláteis, DQO, DBO_{5,20}, nitrogênio total, fósforo total e coliformes totais. Na análise genotóxica foram utilizados 600 exemplares de *Astyanax sp*, que foram expostos por 96 horas ao efluente bruto, pós tratamento, montante e jusante do corpo hídrico das duas indústrias. Os resultados obtidos através do presente estudo indicaram que em todas as amostras analisadas, inclusive no pós-tratamento e a jusante do lançamento, foram constatados danos estatisticamente significativos no material genético dos peixes analisados, com ($p < 0,0001$). Os resultados evidenciaram que os efluentes líquidos das indústrias A e B avaliadas neste estudo, tem potencial genotóxico para causar danos aos organismos vivos presentes nos ecossistemas em que as mesmas estão inseridas.

Palavras-chave: Águas residuais, ensaio cometa, teste do micronúcleo písceo, efluentes industriais, genotoxicidade.

ABSTRACT

The degradation of water quality by the discharge of industrial wastewater, even treated to some degree, has been affecting the health of aquatic organisms, including being able to affect the health of humans, featuring a global environmental problem. Liquid effluents from the food industries A and B, the object of this study with recognized genotoxic potential, are only monitored through physical and chemical analyses. Thus, the present study aimed to evaluate the treatment system of wastewater from two food companies and their genotoxic effects in *Astyanax* sp. Fish were exposed to wastewater pre and post treatment as well as upstream and downstream of the release. The genotoxicity was evaluated according to the technique of the comet assay and micronucleus test in piscine. Physical, chemical and biological parameters of: temperature, pH, dissolved oxygen, alkalinity, volatile acids, COD, BOD_{5.20}, total nitrogen, total phosphorus and coliforms were analyzed. Genotoxic analysis in 600 specimens of *Astyanax* sp, which exposed for 96 hours to raw wastewater, after treatment, and downstream water body in the two industries were used. The results obtained from this study indicated that in all samples, including post processing and downstream of the release, statistically significant damages were observed in the genetic material of the fish analyzed, with ($p < 0,0001$). The results showed that the wastewater from industries A and B evaluated in this study, have genotoxic potential to cause harm to living organisms in the ecosystems in which they are embedded.

Keywords: Wastewater, comet assay, micronucleus test piscine fish, industrial effluent, genotoxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Núcleos de peixes expostos a contaminantes	32
Figura 2 - Classificação visual das classes de dano de acordo com o tamanho de intensidade da cauda do cometa.....	34
Figura 3 - Peneiras rotativas da linha verde e vermelha.	40
Figura 4 - Tanque de equalização	41
Figura 5 - Lagoa de estabilização	41
Figura 6 - Sistema de tratamento de efluentes líquidos da indústria A	42
Figura 7 - Peneira estática e tanques de gordura	44
Figura 8 - Lagoa de polimento com aeradores	45
Figura 9 - Sistema de tratamento de efluentes líquidos da indústria B.....	46
Figura 10 - Aquários com os peixes expostos	48
Figura 11 - <i>Astyanax sp</i> “lambaris.....	49
Figura 12 - Variação de temperatura das Indústrias A e B	62
Figura 13 - Variação do parâmetro pH para as Indústrias A e B	63
Figura 14 - Variação do oxigênio dissolvido das Indústrias A e B	65
Figura 15 - Variação da alcalinidade das Indústria A e B	67
Figura 16 - Variação dos ácidos voláteis das Indústrias A e B	68
Figura 17 - Variação da concentração da DQO das Indústrias A e B	69
Figura 18 - Variação da concentração da DBO _{5,20} para Indústria A e B.....	71
Figura 19 - Variação da concentrações de nitrogênio total das Indústrias A e B	73
Figura 20 - Variação da concentração de fósforo total nas Indústrias A e B	74
Figura 21 - Variação da concentração de coliformes totais Indústrias A e B	76
Figura 22 - Análise de componentes principais Indústrias A.....	77
Figura 21 - Análise de componentes principais Indústrias B	77
Figura 24 - Análise micronúcleo Indústrias A e B - verão	79
Figura 25 - Análise micronúcleo Indústrias A e B - outono	79
Figura 26 - Análise micronúcleo Indústrias A e B - inverno	79
Figura 27 - Análise micronúcleo Indústrias A e B - primavera	80
Figura 28 - Análise do ensaio cometa Indústrias A e B - verão	81
Figura 29 - Análise do ensaio cometa Indústrias A e B - outono	81
Figura 30 - Aálise do ensaio cometa Indústrias A e B - inverno	81
Figura 31 - Análise do ensaio cometa Indústrias A e B - primavera	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Caracterização de efluentes de matadouros/frigoríficos por cinco autores	20
Quadro 2 - Características da eficiência dos principais sistemas de lagoas.....	21
Quadro 3 - Bioensaios efetuados com diferentes efluente líquidos.....	33
Quadro 4 - Resumo das análises realizadas.....	47
Quadro 5 - pH, oxigênio dissolvido, DQO e DBO _{5,20} da coleta 20.09.2012	53
Quadro 6 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 08/03/2013	54
Quadro 7 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 05/04/2013	54
Quadro 8 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 10/05/2013	55
Quadro 9 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 14/06/2013	55
Quadro 10 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 12/07/2013	56
Quadro 11 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 09/08/2013	56
Quadro 12 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 27/09/2013	57
Quadro 13 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 17/10/2013	57
Quadro 14 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 15/03/2013	58
Quadro 15 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 12/04/2013	58
Quadro 16 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 14/06/2013	59
Quadro 17 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 19/07/2013	59
Quadro 18 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 09/08/2013	60
Quadro 19 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 27/09/2013	60
Quadro 20 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 17/10/2013	61
Quadro 21 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas de 08/03/2013	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Carga orgânica e concentração no efluente líquido, por tipo de abatedouro.....	19
Tabela 2 - Cargas poluidoras no efluente de abatedouros bovinos, por animal abatido.....	19
Tabela 3 - Vazão e carga poluidora orgânica por linha de efluente.	19

LISTA DE SIGLAS, SIMBOLOS E ABREVIATURAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CEMA – Conselho Estadual de Meio Ambiente do Paraná
CERH – Conselho Estadual de Recursos Hídricos
CNPC – Conselho Nacional de Pecuária de Corte
CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente
CONSEMA – Conselho Estadual de Meio Ambiente do Rio Grande do Sul
COPAM – Conselho Estadual de Política Ambiental do Estado de Minas Gerais
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DQO – Demanda Química de Oxigênio
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FATMA – Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina
FNP – Federação Nacional da Pecuária
IAP – Instituto Ambiental do Paraná
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg – Quilo grama
L – litro(s)
m – Metros
m³ – Metros cúbicos
MN – Micronúcleo
pH – Potencial Hidrogeniônico
P+L – Produção mais limpa
RIISPOA– Regulamento Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SANEPAR – Companhia de Saneamento do Paraná
SUDERHSA – Atual Instituto das Águas do Paraná
TDH – Tempo de detenção hidráulica
UASB – Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente
UNEP – Programa Ambiental das Nações Unidas
USEPA – Agencia de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Objetivo Geral.....	14
1.2.2 Objetivos Específicos	14
1.3 JUSTIFICATIVAS.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 ESTABELECIMENTOS DE ABATE BOVINO	15
2.2 PERFIL DO SETOR DE FRIGORÍFICOS	15
2.3 CONSUMO DE ÁGUA E GERAÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS.....	16
2.4 TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM FRIGORÍFICOS	21
2.5 DEGRADAÇÃO DOS AMBIENTES AQUÁTICOS	24
2.6 TOXICOLOGIA	26
2.7 O USO DE BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL	28
2.8 GENOTOXICIDADE AMBIENTAL.....	30
2.8.1 Teste micronúcleo	30
2.8.2 Ensaio cometa	32
2.9 ESCOLHA DO ORGANISMO TESTE.....	34
2.10 O GÊNERO <i>ASTYANAX SP</i> (“LAMBARI”)	35
2.11 LEGISLAÇÕES APLICADAS AO CONTROLE DA ECOTOXICIDADE EM EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 INDÚSTRIA A.....	38
3.1.1 Etapas de produção da Indústria A.....	39
3.1.2 Etapas do tratamento de efluentes da Indústria A	39
3.2 INDÚSTRIA B	42
3.2.1 Etapas de produção da Indústria B	43
3.2.2 Etapas de tratamento de efluentes líquidos da Indústria B	43
3.3 COLETAS DAS AMOSTRAS.....	46
3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS EFLUENTES COLETADOS.....	47
3.5 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE	48
3.6 ANÁLISES DE GENOTOXICIDADE	49
3.6.1 Animais utilizados no experimento.....	49
3.6.2 Teste do micronúcleo pístico.....	50
3.6.3 Ensaio Cometa	50
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	53
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE.....	53
4.2 ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS	78
5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES	84
REFERÊNCIAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

No contexto das grandes preocupações com o ambiente, decorrentes do processo de degradação ambiental, a questão da disponibilidade e da qualidade da água ocupa posição de grande destaque (PHILIPPI, 2005).

A preocupação com a qualidade da água decorre da contaminação dos recursos hídricos através do despejo de poluentes das mais variadas fontes, tais como de agroindústria, indústria de mineração, indústria de transformação em geral, esgoto doméstico não tratado, dentre outros. Segundo Fernandes *et al.* (2001), águas residuárias podem conter substâncias tóxicas inibidoras do metabolismo bacteriano. A presença dessas substâncias no sistema de tratamento biológico pode inibir a atividade das bactérias, reduzindo a eficiência do sistema e até levá-lo ao completo colapso.

Dentre as indústrias que lançam os seus efluentes nos cursos d'água, a indústria frigorífica tem grande relevância em função da elevada quantidade de água utilizada em seus processos de abate de animais e industrialização de carnes, e pela consequente geração de efluentes líquidos em grande escala, com características altamente poluidoras (SPERLING, 2002).

Em um diagnóstico para redução da geração de resíduos em um frigorífico industrial, Peterlini (2012) concluiu que o consumo de água por animal abatido é de aproximadamente 2,7 m³. Outro importante fator a ser considerado no consumo de água e consequente geração de efluentes pelos frigoríficos é o desenvolvimento que essa indústria atingiu nas últimas décadas. Segundo o Conselho Nacional da Pecuária de Corte (2009), o Brasil é atualmente um dos maiores produtores de carne bovina do mundo, com abate anual da ordem de 45 milhões de cabeças de bovinos.

Os efluentes da indústria frigorífica contêm lipídios, proteínas, sangue e outros materiais orgânicos que causam danos ambientais quando lançados em corpos d'água sem o devido tratamento. A alta concentração desses compostos orgânicos no efluente, principalmente gorduras e proteínas, favorecem o desenvolvimento de organismos microbianos nocivos no meio ambiente (MASSÉ; MASSÉ, 2005).

Além da matéria orgânica já citada, os efluentes da indústria frigorífica contêm resíduos de produtos químicos empregados nos procedimentos de limpeza e sanitização das instalações, que também contribuem para acentuar o potencial de contaminação desses rejeitos (CETESB, 2008).

Diante deste problema ambiental, fica evidente a necessidade de a indústria frigorífica tratar adequadamente os seus efluentes líquidos antes de descartá-los nos cursos naturais de água (PACHECO; YAMANAKA, 2006).

A realidade do tratamento, via de regra, é bem diversa, pois embora seja teoricamente possível tratar o efluente para atender qualquer padrão exigido, existem vários fatores limitadores no cotidiano das indústrias, como custos muito altos e deficiências tecnológicas, que acabam afetando negativamente o processo de tratamento dos seus efluentes (SCHOENHALS, 2006).

Nesse contexto de contaminação do meio aquático, vêm sendo desenvolvidos, nos últimos anos, métodos de avaliação e monitoramento de ecossistemas aquáticos mediante a utilização de organismos vivos, especialmente peixes, que apresentam características favoráveis à realização de tais experimentos (BÉKAERT *et al.*, 1999).

Pawlowsky *et al.* (2004) destacam que testes de toxicidade com organismos vivos, representam uma ferramenta importante na avaliação de desempenho de unidades de tratamento de efluentes industriais e no estabelecimento de padrões de qualidade do corpo receptor. Testes de toxicidade de compostos já conhecidos, específicos do afluente, são de grande importância no controle de estações de tratamento, porque podem estabelecer o grau de toxicidade desses compostos e evitar o colapso permanente ou temporário da atividade do lodo.

Metcalf *et al.* (2003) alertam sobre as inúmeras evidências da associação entre diversos contaminantes, inclusive os químicos, e tumores em peixes, baseados na presença de resíduos tóxicos presentes em amostras de sedimento aquático, coletadas em locais onde vivem populações de peixes que apresentaram tumores e outras anormalidades.

No Brasil, nos estados mais industrializados como São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com sérios problemas de poluição hídrica, têm realizado vários estudos visando a caracterização da toxicidade e genotoxicidade de efluentes industriais e corpos d'água superficiais (SANCHEZ *et al.*, 1999; ZAGATTO *et al.*, 2006), tendo-se verificado sério comprometimento de alguns corpos d'água que recebem lançamento de efluentes industriais.

Pretende-se, através deste trabalho, avaliar a genotoxicidade dos efluentes líquidos de duas plantas industriais do setor de frigoríficos, localizadas na região metropolitana de Curitiba, denominadas como Indústria A e Indústria B.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Analisar o potencial de genotoxicidade dos efluentes líquidos provenientes de duas indústrias frigoríficas da região metropolitana de Curitiba.

1.2.2 Objetivos Específicos

Para cumprimento do objetivo geral, foram propostos os seguintes objetivos:

- i. Realizar a caracterização física, química e microbiológica das amostras de efluentes coletados com determinação dos parâmetros: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, ácidos voláteis, DQO, DBO_{5,20}, nitrogênio total, fósforo total e coliformes totais;
- ii. Verificar o efeito genotóxico dos efluentes líquidos pré e pós-tratamento na espécie *Astyanax sp* (“lambari”) através dos biomarcadores teste do micronúcleo píceo e ensaio cometa com eritrócitos.

1.3 JUSTIFICATIVAS

Devido ao volume, variedade e reconhecido potencial tóxico dos efluentes industriais que são lançados nos cursos hídricos, torna-se necessário avaliar os efeitos causados sobre a saúde dos ambientes aquáticos utilizando biomarcadores sensíveis e de alta relevância ambiental, como o de mutagenicidade através do teste do micronúcleo e o estudo cometa para avaliar a genotoxicidade em espécies nativas abundantes na região de estudo.

Vale salientar que são escassos na literatura estudos ecotoxicológicos de efluentes líquidos gerados em abatedouros frigoríficos, e que o tratamento desses efluentes é muitas vezes ineficiente e não atende os limites estabelecidos na legislação ambiental.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESTABELECEMENTOS DE ABATE BOVINO

No Decreto 30.691/1952 foi regulamentada a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, abrangendo, dentre outros, a carne e seus derivados, caça e seus derivados, pescado e seus derivados, leite e seus derivados, ovo e seus derivados, mel e a cera de abelhas e seus derivados e produtos utilizados em sua industrialização.

Na RIISPOA foi considerado como estabelecimento de produtos de origem animal qualquer instalação ou local onde ocorre abate ou industrialização de animais produtores de carne, envolvendo procedimentos de recebimento, manipulação, elaboração, transformação, preparação, conservação, armazenagem, depósito, acondicionamento, embalagem e rotulagem de produtos de origem animal para fins industriais ou comerciais.

Nesse mesmo decreto foram classificados os estabelecimentos utilizados para o abate de bovinos como:

a) Matadouro ou abatedouro: no qual é realizado o abate dos animais, sem industrialização da carne, são produzidas carcaças (carne com ossos), vísceras comestíveis e os chamados “cortes de açougue”, e feita a desossa das carcaças;

b) Frigorífico: classificado em: a) abatedouro-industrial: no qual é feito abate dos animais, separação da carne e vísceras e produção de derivados e subprodutos; b) frigorífico-industrial: não é feito abate dos animais, apenas compra da carne em carcaças ou em corte e vísceras e é feito o processamento e geração de derivados e subprodutos;

c) Graxaria: é feito o processamento de subprodutos e/ou resíduos dos abatedouros ou frigoríficos e de açougues, como sangue, ossos, cascos, chifres, gorduras, aparas de carne, animais ou suas partes condenadas pela inspeção sanitária e víscera não comestível.

2.2 PERFIL DO SETOR DE FRIGORÍFICOS

Segundo o Conselho Nacional da Pecuária de Corte - CNPC (2009), o Brasil é um dos maiores produtores de carne bovina do mundo e tornou-se, em virtude do seu crescimento, uma das atividades econômicas mais importantes dos últimos anos no mercado brasileiro. O rebanho bovino brasileiro, por sua vez, também é um dos maiores do mundo, sendo que em 2011 contava com 209,5 milhões de cabeças (IBGE, 2012). Assim, para uma

população brasileira de 190,7 milhões de habitantes em 2010 (IBGE, 2010), teve-se mais de um bovino por habitante. A maior região produtora atualmente é a Centro-Oeste (ABIEC, 2012).

De acordo com os dados do CNPC (2012) as unidades de abate, antes concentradas nas regiões Sul e Sudeste, atualmente estão se deslocando para a região Centro-Oeste do Brasil devido à migração da produção primária, modernização da bovinocultura nos estados do Brasil Central e ao aproveitamento de incentivos fiscais diversos.

Conseqüentemente, o Brasil também é um dos maiores exportadores de carne bovina no mundo. Pacheco; Yamanaka (2006) informaram que o Brasil tornou-se um grande exportador mundial de carne bovina a partir de 2001, em virtude de diversos fatores, destacando-se entre eles a disponibilidade de área para criação de gado, baixos custos de produção quando comparados com outros países e a abundância de recursos hídricos, ou seja, disponibilidade de água para a indústria de alimentos.

2.3 CONSUMO DE ÁGUA E GERAÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS

A indústria de alimentos consome grande quantidade de água potável e ainda há grandes e consideráveis limitações para o reuso de água que são as restrições impostas pela legislação e as preocupações higiênicas (CODEX, 2011). A utilização da água pela indústria ocorre de diversas formas, tais como: água utilizada diretamente nas várias etapas do processamento industrial, água incorporada aos produtos fabricados, água utilizada na lavagem de equipamentos e instalações, água utilizada em sistemas de resfriamento e geradores de vapor, e ainda, água utilizada para limpeza e descarte de esgoto sanitário. Com exceção da água incorporada aos produtos e à água perdida por evaporação, as demais águas tornam-se contaminadas por resíduos do processo industrial, originando assim os efluentes líquidos (GHANDI, 2005).

Segundo dados da UNEP (2000), 80% a 95% da água consumida em matadouros se torna efluente líquido, que contém elevados níveis de matéria orgânica devido à presença de esterco, gorduras e sangue. O efluente pode conter grandes concentrações de sais, fosfatos e nitratos, que são liberados pelo conteúdo estomacal e esterco dos animais.

Krieger (2007) enfatiza que o consumo de água em indústrias depende de vários fatores, tais como: capacidade produtiva, condições climáticas da região, práticas operacionais e cultura da empresa e da comunidade local. Mierzwa; Hespanhol (2005) relatam que indústrias com plantas mais novas e modernas construídas após o ano de 2000,

já apresentam *layout* mais modernos, piso apropriado com equipamentos mais ajustados à quantidade de água necessária para cada processo.

Muitas empresas utilizam mais água do que o necessário no processo, geralmente, devido à falta de controle dos volumes que estão sendo usados e dos custos operacionais. As operações de limpeza e sanitização são as principais responsáveis pelo elevado consumo de água em matadouros, pois os pisos das áreas de processo devem ser lavados e sanitizados ao menos uma vez ao dia (KRIEGER, 2007). Pacheco; Yamanaka (2006) recomendam que para ter uso racional de água deve-se implementar de forma efetiva e consolidada, a medição confiável do consumo de água. Deve-se medir o consumo total e o consumo em alguns pontos do processo onde o uso de água é significativo.

A questão da utilização da água é um fator determinante na atividade frigorífica, pois todas as etapas do processo, desde a chegada até o abate dos bovinos, demandam grande quantidade de água, sendo consumidos, em média 2.500 litros por animal abatido (PACHECO; YAMANAKA, 2006).

Nessa mesma linha, Peterlini (2012) esclarece que em abatedouros o consumo de água per capita varia de acordo com o tamanho do animal e com o tipo de processo empregado pela indústria, variando de 1,0 a 3,3 m³, e que a maior parte desta água é descartada como efluente.

Ratti; Passig (2007) Verificaram que a unidade que executa as atividades de abate, industrialização e graxaria consomem em média 3.864 L de água por cabeça bovina abatida.

A falta de medições confiáveis em muitos abatedouros e a utilização de diferentes unidades de medidas pelos mesmos, como medidas em litros por cabeça e m³ por peso de carcaça viva para expressar o consumo de água, dificulta a comparação do consumo entre as empresas do setor (RADOLL, 2006).

Luiz (2007), em um estudo sobre gerenciamento hídrico em frigoríficos na região Sul do Brasil, concluiu que as empresas do setor poderiam economizar água, mediante aplicação de minimização e de reuso, na ordem de 25,6% e consequente economia financeira de 27,4%. Neste mesmo estudo o autor verificou que são necessárias ações conjuntas entre os órgãos regulatórios e os de segurança alimentar e ambiental nacionais, indústrias processadoras e institutos de ensino e pesquisa para incentivar, principalmente, o reaproveitamento da água de alguns processos. Contudo, para isso são necessárias análises cautelosas de cada caso, tendo como base o completo conhecimento do risco envolvido para a segurança do produto alimentício e, conseqüentemente, para a saúde dos consumidores.

Assim, devido ao seu consumo de água, os processos industriais em geral, e os de frigoríficos em particular, constituem, atualmente, um dos maiores responsáveis pela poluição e contaminação das águas, quando lançam seus efluentes líquidos sem o devido tratamento (PETERLINE, 2012).

Nunes (2004) informou que o conhecimento das características das águas residuárias industriais constitui o primeiro passo para o estudo preliminar de projetos de estação de tratamento e é fundamental para a indicação do tipo de tratamento adequado em cada caso, além de fornecer indicações seguras a respeito do potencial poluidor dos efluentes gerados.

Na publicação da CETESB (2008) é enfatizado que a análise das características dos efluentes de frigoríficos pode ser uma tarefa mais complicada do que se pensa, pois depende muito da situação operacional de cada estabelecimento. E ainda é alertado que as águas residuárias provenientes de matadouros e do processamento de carne necessitam de tratamento antes de seu lançamento no corpo receptor, visando à minimização dos impactos ambientais e o atendimento da legislação ambiental vigente. Além disso, alguns produtos e subprodutos de abate e processamento, como sangue, pêlo, couro, osso, sebo, pele, esterco podem ser aproveitados, podendo ser aplicados principalmente na indústria alimentícia e no alimento de outros animais.

Destaca-se entre os resíduos gerados o sangue bovino, que possui uma carga muito elevada de DBO, devendo este ser coletado separadamente dos demais resíduos e tratado para o reaproveitamento através de subprodutos do processo de abate. Nesta mesma linha, Sperling (2002) alerta que o sangue é o que apresenta maior DQO, a qual está em torno de 400 g por litro.

Philippi (2005) comentou que alguns nutrientes presentes nos efluentes líquidos de indústrias de alimentos, tais como nitrogênio e fósforo, podem contribuir para a contaminação dos corpos hídricos. Mesmo sendo essenciais para o desenvolvimento de microrganismos, plantas e animais, estes nutrientes quando em excesso acarretam sérios problemas, como a eutrofização dos corpos receptores.

Dependendo das atividades microbiológicas e das reações prevaletentes para a estabilização da matéria orgânica, as lagoas de estabilização podem ser usadas como uma alternativa viável para tratamento de efluentes com alta carga orgânica, como os efluentes líquidos da indústria frigorífica. Estas lagoas são classificadas como: anaeróbias, facultativas e de maturação (SPERLING 2005).

A evolução dos sistemas de tratamento das indústrias tem disponibilizado tecnologias cada vez mais eficientes para remoção da carga orgânica (NAIME; GARCIA, 2005).

Com o propósito de facilitar e melhorar o tratamento primário, os efluentes líquidos de abatedouros foram divididos em linha vermelha, quando os efluentes são gerados em áreas que contêm sangue, como local de limpeza e higienização do estabelecimento; e linha verde, quando os efluentes são gerados em áreas sem a presença de sangue, tais como os espaços de recepção dos animais, condução do animal para o abate, limpeza do estômago do animal e lavagem dos caminhões e pátios (PACHECO; YAMANAKA, 2006).

Na Tabela 1 verifica-se a carga poluidora e a concentração do efluente por tipo de frigorífico.

Tabela 1 - Carga orgânica por animal abatido e concentração no efluente líquido, por tipo de abatedouro.

ANIMAL	TIPO DE ABATEDOURO	CARGA POLUIDORA (kg DBO _{5,20} /cabeça)	CONCENTRAÇÃO (total DBO _{5,20} efluente (mg.L ⁻¹))
Bovino com industrialização		3,76	1.250 – 3.760
Bovino sem industrialização		2,76	1.100 – 5.520

Fonte: CETESB (2000) citado por PACHECO; YAMANAKA, (2006).

Na Tabela 2 encontram-se algumas cargas poluidoras em efluentes de abatedouros bovinos.

Tabela 2 - Cargas poluidoras em efluentes de abatedouros bovinos.

PARÂMETRO (unidade)	ABATE (bovino médio:250kg)
DBO _{5,20} (kg/cabeça)	1,0 - 5,0
Nitrogênio total (kg/cabeça)	0,25 - 1,0
Fósforo total (kg/cabeça)	0,03 - 0,1

Fonte: CETESB (2000) citado por PACHECO; YAMANAKA, (2006).

Na Tabela 3 têm-se as linhas de efluentes vermelha e verde com suas vazões e cargas poluidoras.

Tabela 3 - Vazão e carga poluidora orgânica específica em um abatedouro bovino por linha de efluente

LINHA DE EFLUENTES	VAZÃO ESPECÍFICA	MÉDIA CARGA ESPECÍFICA
Vermelha	1.620 L/bovino	2,4kg DBO _{5,20} /bovino
Verde	540 L/bovino	0,9kg DBO _{5,20} /bovino
Esgoto doméstico	122L/empregado/dia	31g DBO _{5,20} /empregado/dia

Fonte: CETESB (2000) citado por Pacheco; Yamanaka (2006).

No Quadro 1, observa-se a caracterização de efluentes líquidos de matadouros/frigoríficos reportada na literatura.

PARÂMETROS					Referências
DBO _{5,20} (mg.L ⁻¹)	DQO (mg.L ⁻¹)	Sólidos suspensos (mg.L ⁻¹)	pH	Nitrogênio total (mg.L ⁻¹)	
600 - 3900	1100 - 7250	300 - 2300	6,5 - 7,3	90 - 150	Manjunath <i>et al.</i> (2000)
1300 - 2300	2000 - 6200	850 - 6300	6,3 - 6,6	-	Caixeta <i>et al.</i> (2002)
-	7685	1742	7,3	1057	Cassidy e Belia (2005)
5200 - 6700	-	2100 - 6300	6,0 - 8,0	3000	Pacheco e Yamanaka (2006)
2895	4672	1403	-	-	Li <i>et al.</i> (2008)

Quadro1 - Caracterização dos efluentes de matadouros/frigoríficos bovinos.

Destaca-se nestas caracterizações a variação da DQO de 1100 a 7685 mg.L⁻¹ e do Nitrogênio total de 90 a 3000 mg.L⁻¹. Estas variações podem ser explicadas pelos fatores já descritos, que são desde o tipo de processo industrial utilizado, idade da planta e instalações, controle de uso e reaproveitamento da água, sistema de tratamento utilizado, assim como o uso de diferentes modelos para dimensionamento e de operação/manutenção do sistema de tratamento, dentre outros. Portanto a caracterização dos efluentes da indústria de alimentos especialmente dos frigoríficos/matadouros torna-se indispensável, uma vez que a escolha e a eficiência dos processos empregados estão correlacionadas a estas características.

Sperling (1996) e Mees *et al.* (2009) destacaram que o lançamento inadequado de efluentes de frigoríficos nos rios e córregos ocasiona modificações nas características da água, podendo causar poluição, mediante a adição de substâncias ou de formas de energia que, direta ou indiretamente, alteram a natureza do corpo d'água de uma maneira tal que prejudique os legítimos usos que dele são feitos.

2.4 TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM FRIGORÍFICOS

Os frigoríficos, para atenderem à legislação ambiental vigente, devem utilizar sistemas adequados de tratamento de seus efluentes. Visando auxiliá-los, foi descrito pela CETESB (2008) um sistema típico para o tratamento dos efluentes líquidos de frigoríficos, com as seguintes etapas: tratamento preliminar, tratamento primário, equalização, tratamento secundário e tratamento terciário.

O tratamento preliminar envolve a remoção de sólidos grosseiros por peneiras (estáticas, rotativas ou vibratórias). Em seguida tem-se o tratamento primário que tem por objetivo promover ação físico-mecânica dos materiais suspensos sedimentáveis e flutuáveis, que não foram retidos nas peneiras.

Na sequência do tratamento primário são utilizados os tanques de equalização, que são tanques de volume e configuração adequadamente definidos, que permitem absorver variações significativas de vazão e de cargas poluentes dos efluentes líquidos a serem tratados, atenuando picos de carga para a estação de tratamento. Nos abatedouros, a equalização é feita logo após a fase do tratamento primário, reunindo-se os efluentes das linhas verde e vermelha, que seguem, misturados, para a etapa seguinte do tratamento.

O tratamento secundário é realizado para remoção de sólidos coloidais, dissolvidos e emulsionados, principalmente por ação biológica, devido à característica biodegradável do conteúdo remanescente dos efluentes do tratamento primário. Nesta etapa, o tratamento ocorre nas lagoas de estabilização, especialmente nas anaeróbias, que pode ser suplementado por outros processos, tais como processos anaeróbios de contato, filtros anaeróbios e digestores anaeróbios de fluxo ascendente.

Observa-se no Quadro 2 os dados comparativos da eficiência dos principais sistemas de lagoas de estabilização.

Parâmetros	Lagoa facultativa	Lagoa anaeróbia facultativa	Lagoa aerada facultativa	Lagoa aerada mistura completa
DBO	75% - 85%	75% - 85%	75% - 85%	75% - 85%
BQO	65% - 80%	65% - 80%	65% - 80%	65% - 80%
Sólidos sedimentáveis	70% - 80%	70% - 80%	70% - 80%	80% - 87%
Amônia	<50%	<50%	<30%	<30%
Nitrogênio	<60%	<60%	<30%	<30%
Fósforo	<35%	<35%	<35%	<35%
Coliformes	90% - 99%	90% - 99%	90% - 99%	90% - 99%

Quadro 2 - Características da eficiência dos principais sistemas de lagoas.

Fonte: Adaptado de Sperling, (2002).

O tratamento terciário, caso seja necessário, é realizado como “polimento” final dos efluentes líquidos provenientes do tratamento secundário, promovendo remoção suplementar de sólidos, de nutrientes (nitrogênio, fósforo) e de organismos patogênicos.

Souza *et al.* (2006) esclarecem que o sistema de tratamento através de lagoas de estabilização figura entre os melhores métodos de tratamento de efluentes líquidos oriundos

de frigoríficos, principalmente quando se tem o objetivo de usar o lodo gerado nestas lagoas na agricultura como fertilizante. Nas publicações da CETESB (2008) é esclarecido que o conhecimento da carga orgânica presente no efluente e a vazão requerida são imprescindíveis para avaliar o desempenho de uma lagoa de estabilização.

Ruggeri (2011) explica que as lagoas de estabilização podem ser construídas de forma simples e com diversas configurações, tendo sempre a finalidade de alcançar uma qualidade de efluente compatível com a capacidade de diluição do corpo receptor, o que permite lançar efluentes dentro dos limites impostos pela legislação vigente. Estas lagoas devem ser escavadas no solo ou formadas por diques de terra e devem ter os seus fundos compactados para evitar a infiltração de águas residuárias no solo e colocar em risco a qualidade das águas subterrâneas. Deve-se ter o cuidado de dimensioná-las de forma a atender a carga orgânica presente no efluente e a vazão requerida.

Rocha *et al.* (2011) avaliaram um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de efluentes de um matadouro bovino que trabalha de forma sazonal e constataram a presença de sólidos grosseiros, matéria orgânica e sangue na lagoa anaeróbia, comprovando assim o que foi editado por Braile; Cavalcanti (1993); Ratti *et al.* (2007). Já a lagoa facultativa apresentou uma eficiência da ordem de 70% a 80%, enquadrando-se na eficiência recomendada por Sperling (2002). Neste estudo foi constatado que a variação no abate comprometeu a eficiência do tratamento por lagoas, ou seja, não houve uma atividade de abate constante, o que gerou quantidade diferente de efluente a cada dia de trabalho, colocando o sistema secundário com aparentes “zonas mortas”. A origem de zonas mortas nas lagoas anaeróbias geralmente está associada a vazão afluente acima da capacidade do sistema e aspectos hidrodinâmicos em função da geometria da lagoa.

Frick (2011) realizou em parceria com órgão ambiental do Estado do Rio Grande do Sul, Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM, um monitoramento de efluentes líquidos em 15 unidades frigoríficas de médio porte operando no estado, com sistema de lagoas de estabilização, que 14 unidades apresentavam não conformidades com a legislação para os parâmetros $DBO_{5,20}$, DQO, fósforo, nitrogênio e coliformes termotolerantes. Baseado nesta pesquisa o autor concluiu que o maior problema para o não atendimento da legislação pode ter sido um projeto inadequado e um sistema de lagoas sem manutenção.

Silveira (1999) elaborou um modelo para seleção de sistemas de tratamento de efluentes de indústria de alimentos no mesmo estado. O autor encontrou uma série de deficiências no projeto, tanto em nível de execução e dimensionamento, quanto de escolha

de equipamentos. Neste estudo foi constatado que no estado impera o sistema de “cópia” de projetos, sem o devido acompanhamento técnico.

Betineli (2011) avaliou uma estação de tratamento de efluentes de uma empresa de processamento de subprodutos da indústria de carnes, contendo restos de ossos de animais provenientes da desossa, animais não liberados para consumo humano pelo Sistema de Inspeção Federal (SIF), pedaços de carnes, cartilagem e gorduras retidas nas peneiras e nos tanques do sistema de tratamento de efluentes líquidos. Estes subprodutos, após serem industrializados, geram outros produtos como farinhas de carne e sebo líquido. Portanto, estas empresas geram efluentes passíveis de tratamento e devem lançar seus efluentes líquidos de acordo com a legislação vigente. Para verificar a eficiência do sistema de tratamento nesta indústria, o autor analisou DQO, DBO, oxigênio dissolvido (OD), sólidos suspensos (SS), nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, óleos e graxas, fósforo total, surfactantes, pH, alcalinidade, cloretos, sólidos sedimentáveis (SD), sólidos totais e sulfeto. Concluiu-se que o efluente tem uma elevada carga orgânica, como descrito por CETESB, (2000), citado por PACHECO; YAMANAKA (2006).

Betineli (2011) verificou que a eficiência do sistema de lagoas de tratamento de efluentes foi da ordem de 84%, complementando assim o que já foi citado por Sperling (2005). Ao analisar os cálculos dos projetos dos sistemas de tratamento de efluentes feitos para este estudo e comparar com os originais de posse da indústria, o autor, comprovou que a ETE tem os tanques com volume adequado, provando-se assim que o problema é operacional, devido à falta de mão de obra especializada. O autor também verificou que a ETE não recebe efluente nos finais de semana, reforçando a pesquisa feita por Rocha (2011) que por sua vez constatou a ineficiência do sistema de tratamento devido a variação da carga orgânica afluyente.

Dentre as pesquisas mais recentes voltadas para o segmento da agroindústria, pode-se citar Rodrigues *et al.* (2012), que avaliaram o comportamento de efluente líquido de suinocultura, utilizando para tratamento um reator anaeróbio de fluxo ascendente em manta de lodo (*Upflow anaerobic sludge blanket*, ou UASB). Os autores observaram eficiência de remoção de DBO superior a 90% em relação ao afluyente de entrada no reator. Em 2009 os mesmos autores avaliaram o reator seguido de uma lagoa de polimento e obtiveram uma redução superior a 92% da DBO_{5,20}.

É importante ressaltar que as tecnologias de tratamento de efluentes devem prezar não apenas pela remoção de carga orgânica e elementos da fração líquida, mas também pela recuperação dos nutrientes e sua reintegração ao ciclo produtivo. Conforme Hao; Loosdrecht

(2003), os trabalhos de pesquisa nesta área devem buscar, além de melhorias na qualidade do ambiente, o desenvolvimento de processos sustentáveis para o tratamento de efluentes. Esses processos devem ser caracterizados por mínima oxidação de DQO juntamente com máxima formação de metano (através da conversão de DQO), mínimo consumo de energia, menores emissões possíveis de gás carbônico (CO₂), mínima produção de lodo e por possibilitar a recuperação de nutrientes.

Estes estudos ressaltam a necessidade das empresas da área de alimentos buscarem constantemente outras formas de tratar seus efluentes líquidos, uma vez que produtos, insumos e matérias-primas fora de especificação podem alterar a composição dos efluentes, assim como alterações nas linhas do processo industrial (LIMA *et al.*, 2010). Essas alterações geram instabilidade no sistema biológico de tratamento, justificando a necessidade de substituir o costumeiro tratamento por lagoas por tecnologias mais avançadas.

Dentre estas tecnologias destacam-se os reatores anaeróbios, que estão sendo amplamente utilizados em indústrias mais estruturadas, que na maioria das vezes possuem volume de abate ou industrialização acima de 500 cabeças/dia e que não dispõem de grandes áreas. Esses reatores podem operar individualmente ou em combinações, atendendo assim diversas necessidades e arranjos em uma planta industrial. Dentre estas pesquisas pode-se citar (Caixeta *et al* (2002); Arruda (2004); Barbosa; Botari; Freire (2009); Pereira *et al.* (2011))

2.5 DEGRADAÇÃO DOS AMBIENTES AQUÁTICOS

Leite *et al.* (2005) alertam que os efluentes das agroindústrias podem ser lançados em corpos hídricos volumosos e perenes, desde que o volume lançado permita sua autodepuração, sem maiores prejuízos. Porém, muitos corpos hídricos que margeiam as cidades brasileiras e que são usados como manancial de abastecimento, vem recebendo excessivas cargas de material orgânico e mineral, superando sua capacidade de autodepuração. Isto faz com que as águas destes cursos hídricos se tornem impróprias a vários tipos de uso. Em vista disso, é muito importante considerar que a qualidade da água disponível e acessível, tem grande impacto no padrão de vida e bem estar da população, bem como da biota (ODJADJARE; OKOH, 2010).

Outra fonte importante de contaminação das águas refere-se à poluição causada pelas atividades de pecuária em sistemas de confinamento, bem como a suinocultura, a pecuária de leite e a avicultura. Segundo a publicação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA (2013) os problemas causados por essas atividades tendem a crescer no Brasil, devido, principalmente, ao crescimento do consumo interno e da exportação.

Os ecossistemas aquáticos sofrem exposição constante a substâncias tóxicas lançadas no ambiente, tais como as encontradas em efluentes industriais e domésticos lançados em corpos d'água receptores, mesmo depois de submetidos a tratamento. Estas substâncias são capazes de interagir com os organismos vivos causando múltiplas alterações que podem gerar graves consequências em populações, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição, uma vez que não se tem conhecimento da grande diversidade e complexidade das substâncias que são lançadas juntamente com os efluentes líquidos (CETESB, 2008).

Segundo Cajaraville *et al.* (2000) isto é consequência do crescimento populacional e da intensificação de atividades humanas, juntamente com o aumento do avanço tecnológico e do aumento do volume de produtos industriais, inclusive de produtos químicos como fertilizantes, inseticidas e herbicidas.

Este crescimento populacional juntamente com o crescimento das indústrias vem alterando a paisagem urbana e como consequência afetando a dinâmica dos ecossistemas aquáticos. Devido ao crescimento populacional e industrial grandes quantidades de águas residuárias são descartadas nos ambientes aquáticos (ESPÍNDOLA; BRIGANTE, 2003).

Para o estabelecimento do equilíbrio básico da natureza é necessário que seja realizado o biomonitoramento dessas áreas, o que possibilita a tomada de ações corretivas para evitar a redução da qualidade ambiental com o comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam os diversos ambientes (água, sedimento, ar e solo).

Biomonitoramento de corpos hídricos pode ser definido como o uso sistemático das respostas de organismos vivos obtidos diretamente do local em estudo para avaliar as mudanças ocorridas no ambiente, geralmente por ações antrópicas. Este estudo permite uma ampla avaliação das condições naturais, porém as variáveis do ambiente dificultam a interpretação dos efeitos causados pelas ações antropogênicas (RAMSDORF, 2007). Desta forma, estudos de biomonitoramento são fundamentais. Nestes estudos podem ser utilizados peixes como agentes de biomonitoramento, pois a saúde dos peixes reflete a qualidade destes ecossistemas e os indivíduos que deles fazem uso.

Além disso, pesquisas têm concluído que os resultados obtidos através de análises pontuais físico-químicas dificilmente fornecem informações sobre o efeito conjunto de várias substâncias que, interagindo, podem afetar a biota presente no ambiente aquático. Estes organismos vivos seriam os primeiros a sofrerem com a exposição de substâncias degradantes, pois estariam frequentemente expostos a agentes ambientais que podem, até mesmo, induzir as instabilidades em nível celular (CAJARAVILLE *et al.*, 2000; BARSIENE *et al.*, 2006).

Dessa forma, para avaliar o impacto dos poluentes no ambiente é pertinente que sejam mensurados os efeitos que essas substâncias causam nos organismos vivos desses ecossistemas.

2.6 TOXICOLOGIA

Segundo Hodgson (2004), a toxicologia divide-se em três ramos: toxicologia clínica que trata os seres humanos, a toxicologia forense que estuda os aspectos médico-legais e a toxicologia ambiental que permite estudar os ecossistemas inclusive os aquáticos.

A ecotoxicologia é uma área de estudo específica da toxicologia ambiental, que estuda os efeitos causados por agentes químicos e físicos sobre a dinâmica de populações e comunidades integrantes de ecossistemas definidos, tais como rios, lagos e oceanos (KENDALL *et al.*, 2001).

Segundo Rand *et al.* (1995) a avaliação dos efeitos de substâncias químicas tóxicas sobre organismos que vivem em ecossistemas aquáticos é feita pela ecotoxicologia aquática, através dos testes de toxicidade aquática. A ecotoxicologia aquática é uma ciência que surgiu para dar suporte no enfrentamento dos problemas de contaminação dos corpos de água por compostos tóxicos. A inserção dos ensaios ecotoxicológicos como ferramenta de avaliação ambiental é de fundamental importância, pois alguns fatores não são avaliados pelas variáveis abióticas, como por exemplo, a biodisponibilidade e a interação entre os efeitos de poluentes (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

A resposta biológica a agressões ambientais pode ser verificada em qualquer nível de organização, desde compartimentos subcelulares ou reações bioquímicas intracelulares a células, sistemas fisiológicos, organismos, populações, comunidades e até em ecossistemas (WALKER *et al.*, 1996).

Os testes de toxicidade aquática podem ser aplicados para determinar a sensibilidade do organismo exposto em relação a um possível agente tóxico, para avaliar a qualidade da água e as concentrações seguras de agentes químicos para manutenção da vida aquática e determinar a eficiência de diferentes sistemas de tratamento de efluentes nas indústrias (METCALF; EDDY, 2003).

Os testes de toxicidade podem ser crônicos ou agudos. A avaliação do efeito crônico é definida como sendo a resposta a um estímulo que continua por um longo tempo, onde esses períodos podem durar parte ou todo o ciclo de vida dos organismos aquáticos (ZAGATTO *et al.*, 2006). O mesmo autor relata que a observação de um efeito crônico é permitida através da observação de quanto certa concentração de agente tóxico permite a sobrevivência dos organismos.

O teste de toxicidade aguda avalia qual concentração de uma amostra é capaz de produzir efeitos deletérios nos organismos expostos ao teste. Geralmente são contabilizadas a letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede. Este teste é realizado com exposição por um curto período em relação ao ciclo de vida do organismo-teste (CONSEMA n°129/2006).

No entanto, a análise de substâncias isoladamente não fornece informações suficientes devido às inúmeras substâncias que são emitidas aos corpos d'água e que muitas vezes não apresentam padrões de lançamento pela legislação brasileira (CETESB, 1990). Além disso, as atividades biológicas proporcionadas pela biota aquática, podem interagir com as substâncias presentes nos efluentes, tornando inviável a identificação de uma única substância como responsável por um determinado efeito (CARTER, 1986). Já a análise de toxicidade de toda a composição do efluente remete à complexidade dos compostos e às interações que podem ocorrer como efeitos aditivos, sinérgicos e antagonísticos (ZAGATTO *et al.*, 2006).

Existem poucos estudos que correlacionam o tratamento dos efluentes com sua toxicidade (QUAGLIA; QUADROS, 1995). A grande maioria das pesquisas trata das características físico-químicas do efluente e seus impactos no corpo receptor. O emprego de testes de toxicidade aguda em efluentes permite avaliar os possíveis impactos que às vezes a simples caracterização físico-química da água não revela (CAJARAVILLE *et al.*, 2000; LAITANO; MATIAS, 2006; BARSIENE *et al.*, 2006).

Um grupo apropriado de respostas biológicas ao estresse, provocadas pelos poluentes, quando aliados às análises físico-químicas permitem a ampla avaliação dos efeitos de agentes tóxicos no ecossistema aquático (FRACÁCIO *et al.*, 2003). Estas

respostas são obtidas através da utilização de biomarcadores específicos, que atuam em outros níveis biológicos e podem gerar informações relevantes sobre os efeitos de substâncias complexas no ambiente.

Neste contexto, um grupo apropriado de respostas biológicas ao estresse, provocadas pelos poluentes, podem ser utilizadas para identificar sinais iniciais aos organismos e são comumente denominadas biomarcadores (SANTOS, 2009).

2.7 USO DE BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

Segundo Oliveira *et al.* (2005) para realizar os testes de toxicidade é comum o uso de bioindicadores, que permitem uma adequada avaliação da toxicidade de compostos químicos de origem antrópica. Bioindicadores, segundo Adams (2002) são espécies utilizadas em testes de laboratório que permitem identificar os primeiros sinais de dano ambiental causado por contaminantes em diferentes níveis biológicos. Para ser eficiente, um bioindicador deve ser sensível a influências do ambiente, estar disponível em abundância no seu meio, e ter representatividade do seu nível trófico, facilidade de cultivo e de adaptação às condições de laboratório (RAND, 1995).

Já biomarcadores, segundo Walker *et al.* (1996) são alterações biológicas que refletem a exposição e os efeitos tóxicos de poluentes presentes em um determinado ambiente. Os biomarcadores podem ser classificados como de exposição e de disposição para receber influências ou sofrer enfermidades (NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Dentre os organismos utilizados como bioindicadores, os peixes reúnem características que os tornam excelentes modelos experimentais para estudos de biomonitoramento (BÉKAERT *et al.*, 1999). Harshbarger; Clark (1990) citam que os peixes são expostos a substâncias tóxicas de maneira igual a outros vertebrados, podendo ser utilizados para avaliação da presença de substâncias que tem potencial de causar efeitos teratogênicos e carcinogênicos em seres humanos.

Estudos com peixes apresentam vantagens em relação a outros organismos vertebrados, pois os mesmos são possuidores de eritrócitos, que tem presença de material genético dentro do núcleo, tanto imaturos quanto maduros nucleados, havendo com isso grande facilidade de obtenção de suspensão celular numerosa e de qualidade com a coleta de pequena quantidade de sangue (ANDRADE *et al.*, 2004)

Outra qualidade inerente aos peixes é que os mesmos possuem diferentes funções na cadeia trófica, sendo capazes de bioacumular, de forma direta e indireta, contaminantes

dissolvidos na água (SOUZA; FONTANETTI, 2006). Minissi *et al.* (1996) descrevem que peixes também acumulam contaminantes de forma indireta, quando estes são incorporados por ingestão de outros organismos contaminados, que habitam no mesmo ambiente.

Al-Sabit; Metcalfe (1995) alertam que peixes, quando usados para alimentos, têm sido os principais vetores de substâncias tóxicas para seres humanos.

2.8 GENOTOXICIDADE AMBIENTAL

A genética ecotoxicológica é um ramo da ciência relativamente novo que tem por objetivo avaliar o efeito de poluentes no material genético dos organismos (KENDALL *et al.*, 2001). Segundo Al-Sabti; Metcalfe (1995), esses efeitos são denominados genotóxicos por induzirem alterações estruturais nos cromossomos (clastogenicidade) ou nas sequências de pares bases (mutagenicidade). Os agentes genotóxicos são aqueles que interagem quimicamente com o material genético (DNA) alterando a sua estrutura, e formando adutos, alterações oxidativas, ou mesmo quebras da molécula de DNA. Quando essas alterações se fixam de forma a poderem ser transmitidas, denominam-se mutações, que podem se perpetuar nas células filhas durante o processo de replicação (MÍDIO; MARTINS, 2000).

Pesquisas relatam que a exposição a agentes genotóxicos afetam algumas estruturas e funções do material genético das células podendo levar a mutações e ao desenvolvimento de câncer (ZEGURA *et al.*, 2009). Estes agentes genotóxicos podem não causar qualquer efeito deletério diretamente no organismo, mas se afetarem as células germinativas podem comprometer as gerações subsequentes através da indução de mutações, comprometendo a estrutura e desempenho populacional (GALVAN, 2011).

Embora estas alterações no DNA possam aparecer de forma espontânea, a maioria delas são provocadas por agentes introduzidos no ambiente aquático (MATSUMOTO, 2004).

Desta forma, em função da ampla implicação ecológica associada à genotoxicidade, a detecção e quantificação de danos genéticos são de grande interesse em estudos ambientais. O grau de integridade do DNA tem sido proposto como um sensível indicador de genotoxicidade e um efetivo biomarcador para o monitoramento ambiental, gerando informações essenciais para agências regulatórias (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Embora nos últimos anos as pesquisas tenham proporcionado progressos rápidos na determinação dos fatores ambientais sobre a indução de danos genéticos em populações

humanas, verificou-se progresso relativamente limitado para determinar o impacto de tais fatores em espécies nativas (PARSONS, 1992; CLARK, 1993).

2.8.1 Teste do micronúcleo

Para avaliar o potencial da mutagenicidade em amostras de água podem ser empregados diferentes ensaios em diversos tipos celulares, através de experimentos *in vitro* e *in vivo* (VILELA *et al.*, 2003).

O teste do micronúcleo é proposto para avaliação de alterações cromossômicas em substituição às técnicas citogenéticas convencionais de observação em metáfase, que necessitam de considerável experiência (HEDDLE, 1991).

A formação de micronúcleos (MN) ocorre nas células filhas em decorrência de danos induzidos nas células parentais, provenientes de fragmentos cromossômicos resultantes de quebras que não são incorporados no núcleo principal das células filhas após a mitose. Esses fragmentos são revestidos por membrana nuclear, ficando visível como um pequeno núcleo separado do núcleo principal da célula. Os micronúcleos podem também ser formados a partir de um cromossomo inteiro, quando ocorre dano no aparelho mitótico da célula, ou no próprio cromossomo. Nesta situação, o micronúcleo irá conter o centrômero do cromossomo, o qual pode ser detectado utilizando sondas específicas (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Os micronúcleos, por serem detectados somente em células eucarióticas em divisão, não podem ser aplicados eficientemente em populações de células que não estejam em divisão ou quando a cinética da divisão celular não é conhecida ou controlada (FENECH, 2000; AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Dentre as diferentes técnicas usadas nos últimos anos, várias metodologias para avaliação de danos no DNA têm sido estudadas para detectar os danos mutagênicos e genotóxicos. Tanto o teste de micronúcleos (MN), que avalia de forma indireta quebras cromossômicas e anormalidades nucleadas associadas quanto a eletroforese em gel de célula única, também chamada de ensaio cometa, constituem ferramentas importantes devido à resposta clara e de rápida interpretação (HEDDLE *et al.*, 1991; BOMBAIL *et al.*, 2001; KAMMANN *et al.*, 2001; SANTOS 2009).

O estudo de danos no DNA em nível cromossômico é uma parte essencial da genética toxicológica, uma vez que a mutação cromossômica é um evento importante na carcinogênese (RIBEIRO, 2003). Micronúcleos são formados pela condensação de

fragmentos cromossômicos acêntricos ou por cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal durante a anáfase. Apesar do pouco conhecimento sobre os mecanismos que relacionam a formação dos micronúcleos em peixes com contaminantes ambientais, a contagem de micronúcleos e o registro de alterações morfológicas nucleares fornecem dados importantes nas avaliações de genotoxicidade em função da sua capacidade de detecção da presença de substâncias clastogênicas na água (AL SABTI; METCALFE, 1995).

O teste do micronúcleo foi originalmente desenvolvido por Schimd (1975) para células da medula óssea de camundongos e foi adaptada por Hooftman; Raat (1982) para o estudo de células sanguíneas de peixes mantidos em laboratórios. O ensaio do micronúcleo em sangue periférico é considerado, atualmente, um dos mais estabelecidos ensaios citogenéticos *in vivo* no campo da genética toxicológica (FENECH, 2000).

A técnica vem sendo cada vez mais usada em análises ambientais por demonstrar a sensibilidade dos peixes frente a diversos contaminantes, inclusive de origem orgânica (GRISOLIA; STARLING, 2001; AYLLON; GARCIA VAZQUEZ, 2003; AMADO *et al.*, 2006).

Ayllon; Garcia-Vazquez (2003) indicam que além da identificação de micronúcleos, a análise de anomalias nucleares deve ser incluída nos estudos de genotoxicidade em peixes por apresentar resultados mais confiáveis e completos, considerando que muitas vezes o micronúcleo pode ter baixa sensibilidade devido à baixa e também variável frequência de micronúcleos em peixes nativos.

Muitos estudos têm verificado o aumento na frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de peixes após exposição a diferentes contaminantes, tanto em condições de bioensaio quanto em biomonitoramento, dentre eles pode-se citar Pacheco *et al.*, (2005); Bolognesi *et al.*, (2006); Moron *et al.* (2006); Ergene *et al.* (2007 a e b); Katsumiti *et al.* (2006); Ramsdorf *et al.* (2007); Polard *et al.* (2011); Cordova (2012).

Ao analisar a Figura 1 observa-se o resultado do teste do micronúcleo com núcleos de peixes expostos a contaminantes com alterações morfológicas nucleares e uma célula sem alteração.

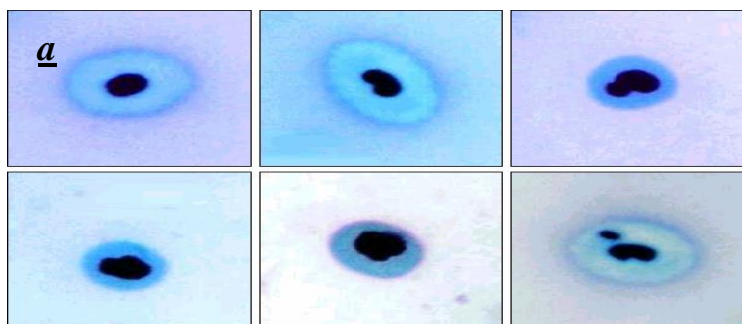


Figura 1 - Núcleos de peixes expostos a contaminantes. A letra na foto **a** indica núcleo sem contaminação. Fonte: Adaptado de Benincá (2006).

Para complementar o teste do micronúcleo é aconselhável realizar o ensaio cometa, uma vez que o micronúcleo é menos sensível, principalmente quando é realizado em conjunto e com várias espécies de peixes que foram expostos a grande número de genotóxicos (BOLOGNESI *et al.*, 2006).

2.8.2 Ensaio cometa

O ensaio cometa recebe este nome devido à aparência semelhante a um cometa onde cada nucleóide apresenta quando submetido à eletroforese (OLIVE, 1990).

Belpaeme *et al.* (1996) explicam que o ensaio cometa tem sido aplicado com resultados expressivos em eritrócitos de várias espécies de peixes, sendo apontada a sensibilidade das células sanguíneas destes animais aos efeitos genotóxicos. Andrade *et al.* (2004) relataram que o ensaio cometa em estudos ambientais é merecedor de crédito quanto à genotoxicidade em ambientes aquáticos. Segundo Gontijo; Tice (2003), o ensaio cometa é muito utilizado como ferramenta básica em muitas áreas de pesquisa, incluindo biomonitoramento ambiental e ecotoxicologia genética.

O ensaio cometa tem sido proposto como uma sensível, rápida, econômica e versátil ferramenta para detecção de agentes genotóxicos em peixes, sendo amplamente utilizado como ferramenta de avaliação de dano e reparo no DNA, tanto quantitativamente, quanto qualitativamente em populações de células individualizadas (MITCHELMORE; CHIPMAN, 1998; WINTER *et al.*, 2004; OLIVE; BANATH, 2006; FRENZILLI *et al.*, 2009).

Segundo Jha (2008), a aplicação do ensaio cometa é ampla, abrangendo uma série de grupos filogeneticamente distintos, utilizando grande variedade de agentes físicos e químicos, com os organismos em diferentes fases de vida, em diversos tipos celulares, sob condições de laboratório e de campo. No entanto, o autor ressalta que existem aspectos onde

a aplicação do teste tem sido limitada, como: (a) atualmente o ensaio é aplicado com sucesso a um número limitado de espécies nativas, principalmente para aplicação em monitoramento ambiental; (b) são escassos os estudos ecotoxicológicos que aplicam a técnica nas células germinativas dos organismos; c) em espécies nativas existe pouca compreensão sobre os mecanismos de indução e reparo do DNA.

Portanto, este ensaio tem um potencial de aplicação quase ilimitado para biomonitoramento ambiental, com diversos organismos aquáticos sendo utilizados para este teste (HAUMOUTENE *et al.*, 2002; KLOBUCAR *et al.*, 2003).

Até o presente momento não existem publicações sobre a utilização destes testes com efluentes líquidos oriundos da indústria frigorífica.

No Quadro 3 são apresentadas pesquisas feitas com água e águas residuárias usando diversas espécies como bioindicadores.

Espécie	Tipo celular	Local da coleta	Contaminação	Referências
<i>Astyanax jacuhiensis</i>	Eritrócitos	ETE de um Curtume	Água residuária	Matsumoto <i>et al.</i> , 2006
<i>Carassius auratus</i>	Eritrócitos e células branquiais	Aterro - chorume bruto e tratado	Água residuária	Deguchi <i>et al.</i> , 2007
<i>Pimephales promelas</i>	Hepatócitos	ETE - lodo de esgoto tratado	Água residuária	Sullivan <i>et al.</i> , 2007
<i>Astyanax jacuhiensis</i>	Eritrócitos	Diversos pontos de um rio	Água	Vilches, 2009

Quadro 3 - Bioensaios efetuados com água e águas residuárias.

Vários outros estudos efetuados em laboratórios demonstram o potencial do ensaio cometa para identificar alterações do DNA em células de peixe, causadas por uma variedade de genotóxicos (Villela (2003); Barreto *et al.* (2007); Rixian *et al.* (2007); Zhang *et al.* (2008); Banni *et al.* (2009); Morais (2009); Ramsdorf *et al.* (2011); Vivai (2011); Cordova (2012)).

Na Figura 2 observa-se a classificação visual dos níveis de dano de acordo com o tamanho e intensidade da cauda do cometa.

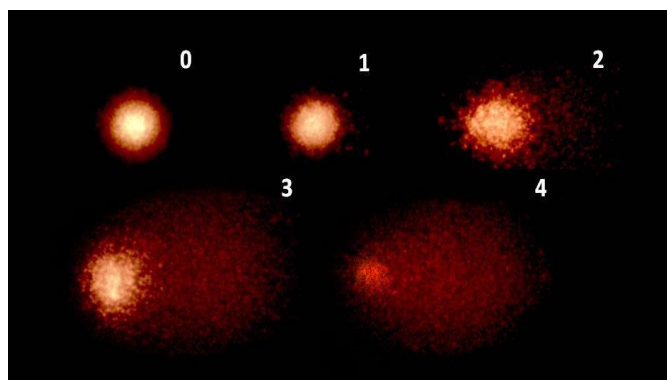


Figura 2 - Classificação visual das classes de dano de acordo com tamanho e intensidade da cauda do cometa: (0) sem dano; (1) pouco dano; (2) dano moderado; (3) dano elevado; (4) dano máximo. Aumento de 400x em microscopia de epifluorescência. Fonte: Adaptado de Galvan (2011).

2.9 ESCOLHA DO ORGANISMO TESTE

Para a seleção de um organismo teste o princípio básico que deve ser considerado na escolha é sua sensibilidade a diversos agentes químicos (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006). A sensibilidade de um organismo dependerá de diversos fatores como nível nutricional, idade do organismo, sexo, fase de desenvolvimento, características genéticas, competição entre indivíduos ou espécies, além de fatores ambientais como luminosidade e temperatura (RUBINGER, 2009).

Várias espécies vêm sendo empregadas internacionalmente em testes de toxicidade, gerando subsídios para melhor avaliação e caracterização dos efeitos tóxicos. Dentre os principais grupos de organismos utilizados destacam-se as microalgas, microcrustáceos e peixes. Para escolha de um organismo-teste geralmente são utilizados os seguintes critérios: abundância e disponibilidade; representação ecológica; cosmopolitismo da espécie; conhecimento de sua biologia, fisiologia e hábitos alimentares; estabilidade genética e uniformidade de população; baixo índice de sazonalidade; sensibilidade constante e apurada; importância comercial; facilidade de cultivo em laboratório e se possível, a espécie deve ser nativa (RAND; PETROCELLI, 1995 *apud* MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Uma espécie indicada para estudos de genotoxicidade e mutagenicidade é aquela que apresenta alguns critérios, dentre os quais podem-se citar: (1) que esteja largamente distribuída em vários ecossistemas; (2) que seja sensível para detectar poluentes, mesmo em baixas concentrações; (3) que seja adequada para experimentos em laboratórios; (4) que seja

abundante, permitindo a captura de vários indivíduos sem afetar a conservação da espécie (SANCHEZ; GALAN *et al.*, 1999).

É importante a utilização de organismos representativos de no mínimo três níveis tróficos, aumentando a probabilidade de se obter uma resposta mais segura. Além disto, pode ocorrer que algum efluente seja mais tóxico a um determinado organismo-teste, ou vice-versa, evidenciando-se a importância da realização de testes com diferentes organismos (GONZALEZ, 2011).

2.10 A ESPÉCIE *ASTYANAX SP* (“LAMBARI”)

O gênero *Astyanax* pertence à classe *Actinopterygii* da ordem *Characiformes*, sendo um peixe com mais de 300 espécies conhecidas no Brasil, que estão distribuídas por praticamente toda a região neotropical e habitam os mais diversos ambientes, como regiões montanhosas, trechos lóticos, leitos de rios, porções lânticas e nascentes de rios. Tem porte pequeno, variando entre 10 e 20 cm (ESPINDOLLA; BRIGANTE, 2003).

Os mesmos autores descreveram em 2008 que a utilização de técnicas citogenéticas moleculares e de estudos empregando marcadores de DNA têm produzido novos dados sobre a biologia evolutiva do grupo, e com isso, possibilitando a revisão de antigos problemas do gênero, como sua difícil classificação taxonômica.

Ramsdorf (2007) cita que o gênero *Astyanax*, mais conhecido como lambari, é altamente utilizado para consumo humano, porém estes peixes apresentam médio valor comercial, devido ao seu pequeno tamanho sendo adequados para estudos em laboratório.

De acordo com Nomura (1975), os lambaris de forma geral apresentam uma alimentação mista, constituída de vegetais, insetos adultos e suas larvas, assim como pequenos peixes. Godoy (1975 *apud* Ramsdorf 2007) descreve que os lambaris são conhecidos como uma espécie forrageira de alto valor ecológico-ambiental.

2.11 LEGISLAÇÕES APLICADAS AO CONTROLE DA ECOTOXICIDADE EM EFLUENTES INDUSTRIAIS

Internacional

Desde meados dos anos 90, países como França, Inglaterra e Alemanha têm pesquisado sistemas de biomonitoramento automático de alerta. A Alemanha possui os

sistemas mais sofisticados e mantém uma extensa rede de estações de biomonitoramento em tempo real para monitorar a qualidade das águas superficiais do Rio Reno. Estas estações são acomodadas em contêineres na margem do rio, utilizando como biossensores peixes, algas, moluscos e microcrustáceos.

Federal

Até recentemente no Brasil, assim como na maioria dos países da América Latina, a avaliação da qualidade de um efluente líquido baseava-se apenas em suas características físico-químicas, tendo em vista que nossas leis ambientais com relação a análises ecotoxicológicas na avaliação de poluição hídrica estavam em estágio de construção. No entanto, em 2005, foi publicada a Resolução CONAMA nº 357, na qual são estabelecidas as condições e padrões para lançamento de efluentes industriais, inclusive quanto ao potencial para provocar efeitos tóxicos no corpo receptor. Com a publicação da Resolução nº 430 do CONAMA, em maio de 2011, houve alteração e complemento da Resolução nº 357 de março de 2005, com critérios para cobrança do atendimento aos parâmetros de toxicidade pelos órgãos ambientais estaduais. Com isto, os órgãos estaduais de meio ambiente já exigem, por meio de Portarias e Resoluções, que os geradores de efluentes atendam aos limites de toxicidade estabelecidos.

Estadual

As regulamentações que merecem destaque são as resoluções dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais, que de forma prática e real aplicam às diretrizes normativas os conceitos de avaliação ecotoxicológica como um dos critérios determinantes da regularização de efluente líquido industrial a ser lançado nos corpos hídricos. No Estado de São Paulo, o monitoramento ambiental fica a cargo da CETESB, que implantou o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos em meados dos anos 90. A resolução SMA 03/2000 (São Paulo, 2000) impulsionou o aperfeiçoamento do controle com a fixação da toxicidade permissível. Além disso, os limites de toxicidade são estabelecidos para cada efluente, podendo ser reavaliados pela CETESB, desde que a empresa responsável pela emissão apresente estudos sobre a toxicologia do efluente com pelo menos três espécies de organismos aquáticos, a variabilidade da toxicidade ao longo do tempo e a dispersão do efluente líquido no corpo receptor.

No Estado do Rio Grande do Sul com a Resolução CONSEMA 129/2006 (Rio G. do Sul, 2006) foi estabelecido em 2012 que a toxicidade aguda (quando a concentração é

liberada em um único evento e rapidamente absorvida) deve ser testada em pelo menos três diferentes níveis tróficos. No ano de 2014 com esta mesma resolução a toxicidade crônica (quando o agente tóxico é liberado em eventos periodicamente repetidos, durante um longo período de tempo) deverá ser efetuada para organismos de pelo menos dois diferentes níveis tróficos. Em 2016, empresas que tenham vazão entre 500 a 1.000 m³/dia deverão comprovar que lançam seus efluentes líquidos sem toxicidade crônica e sem genotoxicidade. Em 2018 será a vez das empresas que gerarem de 100 a 500 m³/dia se adequarem quanto à toxicidade crônica e genotoxicidade. Em 2020, todas as empresas com vazão superior a 100 m³/dia deverão efetuar testes para verificação da toxicidade aguda e genotoxicidade e no ano de 2022 os efluentes gerados e lançados em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul deverão ser isentos de genotoxicidade (ARENZON *et al.*, 2011).

Na Portaria 017/2002 (Santa Catarina, 2002) da Fundação de Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA) são estabelecidos os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens e as substâncias existentes em um efluente líquido não poderão causar ou possuir potencial causador de efeitos tóxicos capazes de provocar alterações no comportamento e fisiologia dos organismos aquáticos presentes no corpo receptor. Além disso, nesta portaria é descrito que é recomendada a utilização de testes ecotoxicológicos padronizados para expressar a toxicidade de um efluente, além de listar uma série de limites máximos de toxicidade aguda de efluentes de diferentes tipos.

No Paraná está em vigor a Portaria 019/2006 publicada pelo Instituto Ambiental do Paraná – IAP, na qual é aprovado o cumprimento da Instrução Normativa DIRAM nº 002/2006, na qual por sua vez é estabelecido o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras no Paraná, e a Resolução CEMA 081/2010 (Paraná, 2010), na qual são dispostos os padrões de ecotoxicidade para o controle de efluentes líquidos lançados em águas superficiais no Estado. Além disto, também são dispostos sobre a utilização dos ensaios biológicos para monitoramento da qualidade das águas superficiais, avaliação integrada da qualidade da água; como também monitoramento de acidentes ambientais. A Portaria 019/2006 tem previsão de revisão para o ano de 2014.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para investigar possível alteração genética em peixes expostos a efluentes líquidos tratados por indústrias do ramo de alimentos, foram selecionadas duas empresas frigoríficas da região metropolitana de Curitiba e por questão de sigilo, estas foram caracterizadas como Indústria A e Indústria B. Após a seleção das empresas, foi elaborada uma metodologia para esta pesquisa, e com a metodologia descrita, foi elaborado um projeto para ser submetido à aprovação junto ao Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná, setor de Ciências Biológicas (Autorização n° 622, de 14/08/2012, Anexo A).

Após autorização do comitê de ética foram selecionados os pontos de coleta nas duas empresas, denominados como: P1 (saída da lagoa anaeróbia), P2 (saída do sistema de tratamento), P3 (montante do lançamento) e P4 (jusante do lançamento) respectivamente.

Para validar a metodologia, foi realizada uma coleta piloto que serviu para verificar o melhor horário para coleta, os possíveis problemas com logística e conservação das amostras. Com as amostras coletadas, foram realizadas análises físicas, químicas, biológica, teste do micronúcleo píceo e ensaio cometa, no período de março a outubro de 2013.

3.1 INDÚSTRIA A

Na indústria A, que ocupa área de 20 hectares, são abatidos aproximadamente 800 bovinos por dia e está ampliando sua capacidade produtiva.

Esta empresa lança seus efluentes líquidos, após tratamento, no Rio Miringuava. Este rio faz parte da área de contribuição direta da bacia do Alto Rio Iguaçu e apresenta uma vazão média de 898 L/s (SUDERHSA, 2012). O rio está localizado no primeiro Planalto Paranaense, situando-se entre os paralelos 25° 34' e 25° 42' de latitude sul e meridianos 49° 00' e 49 de longitude oeste.

A cabeceira da bacia do Alto Iguaçu apresentava boas condições de preservação no período do presente estudo, porém há pressão para desmatamento gerada pela agricultura desenvolvida no entorno. Atualmente a maior expressão agrícola da bacia é a da Colônia Muricy, na qual se desenvolve agricultura convencional com uso intensivo de agrotóxicos.

3.1.1 Etapas de produção da Indústria A

Com o objetivo de conhecer as fases operacionais nas quais os bovinos são manipulados e identificar os pontos geradores de efluentes líquidos na Indústria A, foram realizadas duas visitas técnicas na parte operacional do abate. Ao final do levantamento constatou-se que a operação desenvolve-se conforme Guia Técnico Ambiental da CETESB (2008), na série Industrialização de Carnes – Série P+L, e apresenta as seguintes etapas: recepção dos animais, condução e lavagem, atordoamento, sangria, esfolia (remoção do couro), remoção da cabeça e cascos, evisceração, separação da carcaça, refrigeração, corte e desossa, embalagem, identificação dos cortes/etiquetagem, estocagem e expedição. Têm-se ainda unidades auxiliares e de utilidades que são as caldeiras, sistemas de tratamento de água, sistemas de refrigeração, sistemas de ar comprimido, torres de resfriamento, oficinas de manutenção, almoxarifado, ambulatório, administração, vestiários, restaurantes e o sistema de tratamento de efluentes.

Em todos os setores é utilizada água, especialmente onde se realiza o abate. Este ambiente passa por higienização com água quente pressurizada de 04 a 05 vezes ao dia, ou quando se fizer necessário, para remoção de pedaços de fibras, sangue e pedaços de gordura. A lavagem e higienização das áreas dos processos auxiliares e de utilidades são realizadas uma vez ao dia. Nesse trabalho de higienização, são utilizados água e desinfetantes químicos, que ao final do processo são incorporados ao efluente gerado.

A etapa completa, desde a recepção dos animais até a estocagem e expedição da carne, encontra-se em um fluxograma conforme ANEXO B.

3.1.2 Etapas do tratamento de efluentes líquidos da Indústria A

O sistema atual de tratamento de efluentes líquidos da Indústria A compreende as seguintes etapas: tratamento primário e secundário. O tratamento primário inicia-se com a chegada dos efluentes provenientes do processo produtivo, divididos em duas linhas, vermelha e verde. Na linha vermelha são escoados os resíduos que contêm sangue, pedaços de gordura e cartilagem e na linha verde, os resíduos oriundos da evisceração. Estas duas linhas chegam no ponto inicial do tratamento primário, onde é realizado o processo de peneiramento. Neste setor estão instaladas 02 peneiras rotativas autolimpantes, sendo uma para a linha verde e a outra para a linha vermelha. Estas peneiras possuem uma malha

triangular de 0,50 mm de abertura. Como há medidor de vazão na entrada da ETE, foi feita estimativa de vazão controlando o tempo de enchimento de um vasilhame de 20 L. Com este procedimento estimou-se uma vazão total de 190m³/h, similar a vazão informada pela indústria. Com este levantamento foi verificado em tabelas de fabricantes e constatou-se que é provável que cada peneira apresente taxa de aplicação de 45 m³/m².hora.

Nesta etapa há remoção de matéria orgânica em suspensão e os efluentes das linhas verde e vermelha são misturados, após passarem pelas peneiras, e ficam de 30 a 40 minutos em um tanque de equalização com capacidade de 40 m³.

No tanque de equalização são retidos sobrenadantes, pela diferença de densidade das partículas, estes, regularizam a vazão que deve ser constante nas demais unidades, unificam a concentração dos parâmetros em face da vazão média e contribuem para que a temperatura do efluente de 28° e 30°C, atinja a temperatura ambiente. Este controle de temperatura serve para equilibrar as taxas de reações químicas e biológicas no processo, que influenciam a atividade microbiana, solubilidade dos gases e a viscosidade do efluente. Também com o controle da temperatura evita-se o aumento da taxa de transferência de gases, responsáveis pela geração de mau cheiro (SPERLING, 1996; NUNES, 2004).

Após essa etapa o efluente é encaminhado para o tratamento secundário composto por 4 lagoas, sendo uma lagoa anaeróbia, duas lagoas facultativas em série e uma lagoa de maturação.

Nas Figuras 3, 4 e 5 observam-se as peneiras da linha vermelha (a) e verde (b), tanque de equalização, no qual há mistura das linhas e uma das lagoas de estabilização, respectivamente da Indústria A.



Figura 3 – Peneiras rotativas da linha vermelha (a) e verde (b).

Fonte: A autoria própria.



Figura 4 – Tanque de equalização.

Fonte: Autoria própria.



Figura 5 - Lagoa facultativa.

Fonte: Autoria própria.

Com o objetivo de melhor visualizar o sistema de tratamento existente na Indústria A é apresentada a Figura 6 com fluxograma completo do sistema de tratamento e os pontos de coleta das amostras.

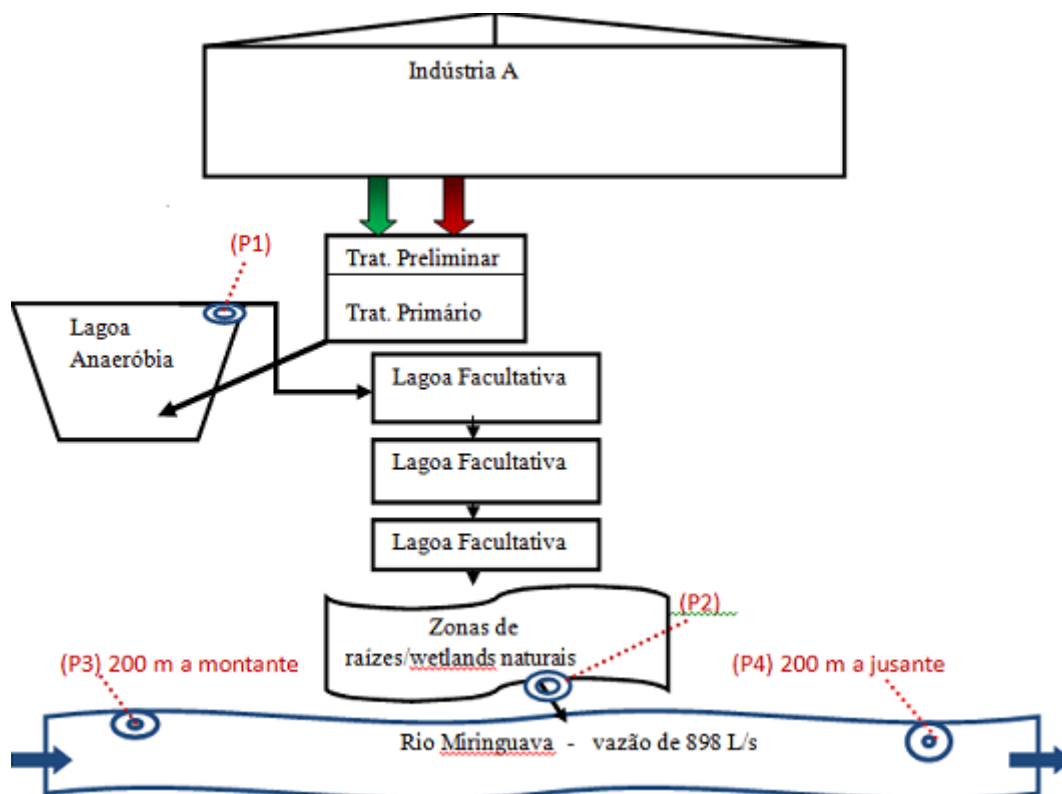


Figura 6 – Desenho esquemático do sistema de tratamento de efluentes líquidos da Indústria A e pontos de coleta das amostras. P1 (saída da lagoa anaeróbia), P2 (saída do sistema de tratamento), P3 e P4 a montante e a jusante do Rio Miringuava. Fonte: Autoria própria.

Cabe ressaltar que a Indústria A não possui projeto com as dimensões e tempo de detenção hidráulica das lagoas de tratamento, reforçando Silveira (1999) que afirmou que os sistemas de lagoas, em boa parte, são projetados com base em cópias de outros sistemas.

Segundo informações fornecidas pela indústria, as lagoas possuem prováveis áreas de: 400 m³ (lagoa anaeróbia), as lagoas facultativas têm aproximadamente 28.800 m³ cada uma e a lagoa de polimento têm possivelmente uma área de 12.000 m³. Diante das vazões e volume das lagoas, constatou-se um provável tempo de detenção hidráulica para a lagoa anaeróbia de 14,3 dias, para as lagoas facultativas de 28 dias.

O efluente das lagoas, ainda passa por um local contendo zonas de raízes/wetlands naturais que colabora no polimento final do efluente.

3.2 INDÚSTRIA B

A Indústria B ocupa área aproximada de 10 hectares e está localizada na região da Bacia do Alto Iguaçu, próximo a sua localização existem outras indústrias de diversos ramos e de atividades agrícolas. Os efluentes gerados são lançados no Córrego Mandassaí

afluente do Rio Pequeno. Esta indústria não possui matadouro em sua planta industrial, porém diariamente industrializa embutidos (salames, salsichas, linguiças e mortadelas, dentre outros) e cortes de carne suína temperada e defumada.

3.2.1 Etapas de produção da Indústria B

Nesta indústria foi realizada uma visita técnica com o objetivo de identificar os pontos de geração de efluentes líquidos. Constatou-se que os maiores volumes são gerados nas etapas finais do processo produtivo, principalmente naquelas relacionadas ao cozimento dos produtos, nas quais são utilizados corantes e temperos químicos. Há também contribuição de efluentes líquidos pelos processos de higienização da área de produção e da lavagem dos maquinários de preparo dos alimentos. A lavagem dos maquinários consiste em realizar a sanitização de canalizações e equipamentos sem prévia desmontagem na qual são utilizadas soluções a base de cloro para desengordurar e desinfetar.

A incorporação dos vários produtos químicos faz com que o efluente final apresente predominância de elementos químicos, comparado aos materiais orgânicos, ao contrário do que foi observado na Indústria A.

Nesta planta industrial a lavagem e higienização são realizadas uma vez ao dia. A geração de efluentes, englobando o processo produtivo e os processos de higienização, estima-se, segundo informações passadas pela indústria, em 120 m³/dia e, considerando operação industrial de 10 h/dia, há geração de vazão média de 15 m³/h de afluentes.

O fluxograma do processo de produção encontra-se no ANEXO C.

3.2.2 Etapas de tratamento de efluentes líquidos da Indústria B

O sistema atual de tratamento de efluentes líquidos da Indústria B compreende as etapas de: tratamento primário e secundário. O tratamento primário é composto por uma peneira estática com abertura de malha de 0,25 mm e provável taxa de aplicação de 15 m³/m².h. Chegou-se a esta taxa de aplicação utilizando a vazão máxima de projeto e com estes dados foi consultado um catálogo de fabricante, conforme recomendado por Nunes (2001). Esta peneira está instalada com inclinação aproximada de 45°, que retêm sólidos com a finalidade de evitar sobrenadantes nos demais processos. Em seguida, o efluente é direcionado para cinco caixas de gordura em série que nesta operação têm a mesma função dos tanques de equalização conforme descrito por Sperling (1996).

A limpeza desta etapa de tratamento é realizada manualmente com raspagem, lavagem com jatos de água e escova da peneira e recolhimento da gordura sobrenadante dos tanques. Cabe ressaltar que os resíduos retidos na peneira são de granulometria pequena, mas com a presença de gordura os mesmos acabam se compactando e formam uma espécie de borra que preenche as aberturas da malha impedindo a passagem do efluente. Constatou-se que quando o efluente não passa pela peneira, sendo desviado diretamente para os tanques de gordura, aumenta a formação de sobrenadantes nos demais processos.

Ainda deve-se considerar que a concentração dos sólidos a serem removidos no sistema pode variar conforme o tipo de produto que está sendo processado e a que temperatura e viscosidade o afluente está chegando na ETE (NUNES, 2001).

Nunes (2001) descreve que há casos em que a concentração de sólidos orgânicos pode ser removida com peneiras dimensionadas corretamente em função da vazão e carga orgânica e que pode remover até 25% da DBO em suspensão grosseira.

Os resíduos gordurosos da peneira e dos tanques ao serem retirados são depositados em containers e destinados a aterro industrial.

Na Figura 7 observa-se a peneira e os tanques de gordura da Indústria B.



Figura 7 - Peneira estática e tanques de gordura. Fonte: Autoria própria.

Após a passagem pelo tratamento primário, o efluente é encaminhado para o tratamento secundário realizado por sistema de lagoas, composto de uma lagoa anaeróbia, seguida de uma lagoa facultativa e duas lagoas com aeração.

Na Figura 8 é observada uma das lagoas aeradas do sistema secundário para complementar o tratamento/polimento.



Figura 8 - Lagoa de polimento com aeradores. Fonte: Autoria própria.

Na Figura 9 verifica-se o fluxograma completo do sistema de tratamento dos efluentes líquidos gerados pela Indústria B, bem como os pontos de coleta das amostras.

O efluente final do tratamento é transportado por tubulações enterradas por aproximadamente 200 m. Após, por mais ou menos mil metros, este é encaminhado por uma vala rasa em meio a um pasto e densa vegetação natural, até atingir o Córrego Mandassaí, afluente do Rio Pequeno.

Quanto às dimensões e tempo de detenção hidráulica da ETE, esta indústria também não possui projeto de dimensionamento das lagoas. Para calcular o tempo de detenção hidráulica, optou-se em medir a extensão e profundidade da lagoa facultativa e das lagoas aeradas. As dimensões e profundidade média das lagoas foram realizadas em vários pontos no interior das mesmas.

Para a lagoa anaeróbia foi considerada profundidade informada pelo operador da ETE, uma vez que a mesma é cercada com arame farpado e foi construída na forma de um trapézio invertido. Estima-se que a maior profundidade seja de 6 m de distância da borda.

Assim, as áreas e volumes aproximados das lagoas são: anaeróbia 600 m³, facultativa 25.000m³ e as de polimento têm área 32.000 m³ cada.

Com o objetivo de melhor visualizar o sistema de tratamento existente na indústria B é apresentada a Figura 9 com fluxograma completo do sistema de tratamento e os pontos de coleta das amostras.

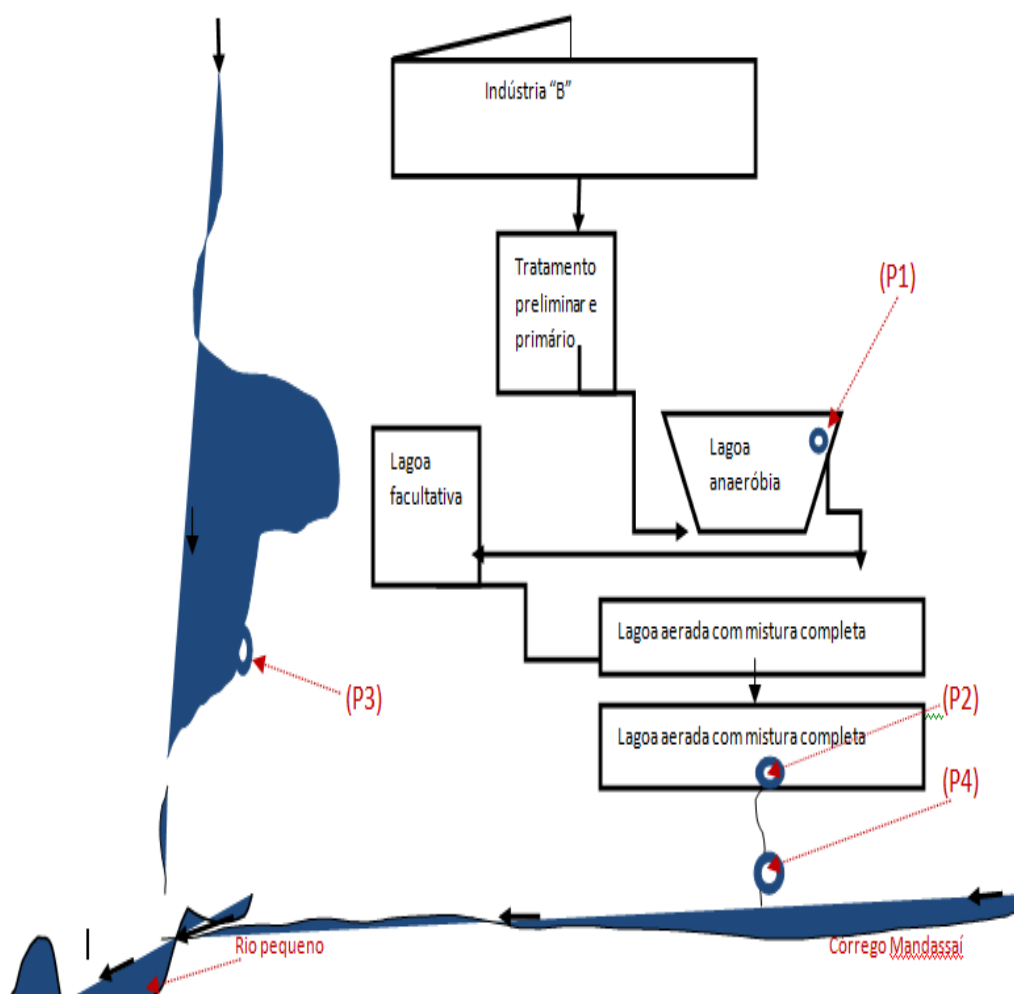


Figura 9 – Desenho esquemático do sistema de tratamento de efluentes líquidos da indústria B com os pontos de coleta das amostras: P1 (saída da lagoa anaeróbia), P2 (saída do sistema de tratamento), P3 (montante – nascente propriedade) e P4 (jusante, 250 metros da saída do sistema de tratamento).
Fonte: Autoria própria.

3.3 COLETAS DAS AMOSTRAS

Realizaram-se oito campanhas com amostras simples, em cada indústria, nas quatro estações do ano de 2013, mais a coleta teste, realizada na primavera de 2012.

O procedimento de coleta das amostras de efluente e da água no corpo receptor foi realizado segundo a metodologia de coleta de águas superficiais publicada pela CETESB (1987), de acordo com procedimentos descritos na ABNT/ NBR 9898 de 1987. Um galão com capacidade de 3 L, foi mergulhado a aproximadamente 10 a 15 cm abaixo da superfície, em sentido contrário a correnteza e içado para a margem. Estas amostras foram transferidas para 20 recipientes de 5 L e transportados até o laboratório da UTFPR.

Para a coleta das amostras destinadas as análises físicas, químicas e microbiológica, foram utilizados recipientes com capacidade de 0,5 L, previamente esterilizados, que primeiramente foram submergidos nas águas do local da coleta, para lavagem prévia dos mesmos com a água residuária do ponto a ser coletado e imediatamente lacrados e refrigerados em embalagem térmica a ± 2 °C, para transporte e, conseguinte, realização das análises.

3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE EFLUENTES COLETADOS

Neste trabalho foram realizadas, com as amostras provenientes das duas indústrias, análises físicas, químicas, bacteriológicas e genotóxicas com os efluentes líquidos durante o período de março a outubro de 2013. Os parâmetros analisados e as técnicas analíticas utilizadas estão descritos no Quadro 4.

QUADRO RESUMO DAS ANÁLISES			
Análises	Frequências	Pontos de coleta	Técnica analítica
Temperatura (°C)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Termístor acoplado a oxímetro digital portátil marca YSI
pH	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Potenciométrico digital portátil Hanna
Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Oxímetro digital portátil marca YSI
Alcalinidade total (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Volumétrico, Standard Methods
Ácidos voláteis (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Volumétrico, Standard Methods
Nitrogênio total (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Digestão por persulfato de potássio segundo APHA (2005)
Fósforo Total (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Ácido ascórbico mais persulfato de potássio segundo APHA (2005)
DQO (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Dicromato de potássio em ácido sulfúrico segundo APHA (2005)
DBO _{5,20} (mg.L ⁻¹)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Método winkler modificado pela azida sódica segundo APHA (2005)
Coliformes totais (NMP)	2 coletas em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Tubos múltiplos segundo APHA (2005)
Teste do micronúcleo	1 coleta em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Metodologia descrita no APÊNDICE C
Ensaio Cometa	1 coleta em cada estação do ano	P1, P2, P3 e P4	Metodologia descrita no APÊNDICE D

Quadro 4 – Parâmetros e técnicas utilizadas.

3.5 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE

No laboratório, as amostras foram imediatamente colocadas em cinco diferentes aquários, com capacidade de 24 L cada, sendo um com efluente bruto diluído em água potável e filtrada a 50%, um para efluente da saída do sistema de tratamento, um para água a montante do rio, um para a água a jusante do rio e outro com água potável e filtrada, utilizado como grupo controle.

Nestes aquários foram colocados 15 peixes da espécie *Astyanax* com aproximadamente 5 a 8 cm cada, que ficaram expostos ao ambiente das amostras acima descritas durante 96 horas, sendo mantida a aeração dos aquários.

Após esse período, os peixes foram anestesiados com benzocaina e sacrificados para coleta de amostras de sangue. O sangue foi coletado para análise dos biomarcadores de dano genético: teste do micronúcleo pisco e ensaio cometa. Na Figura 10 são observados os aquários com os peixes. (P1) efluente bruto diluído 50%, (P2) efluente da saída do tratamento, (P3) montante do rio, (P4) jusante do rio e (P5) aquário controle.

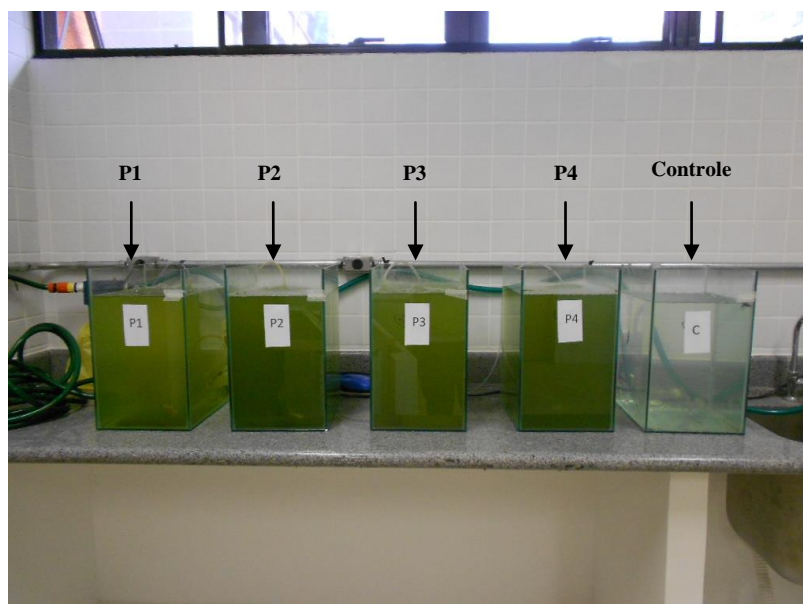


Figura 10 - Aquários com peixes expostos ao efluente da Indústria B, sendo: (P1) efluente bruto diluído 50%, (P2) efluente da saída do ETE, (P3) montante do rio, (P4) jusante do rio e (P5) aquário controle negativo. Fonte: Autora (2013).

3.6 ANÁLISES DE GENOTOXICIDADE

3.6.1 Animais utilizados no experimento

Para realização deste trabalho foram utilizados peixes da espécie *Astyanax sp* (Figura 11), escolhidos por ser uma espécie que ocorre igualmente e de forma contínua em toda a região que envolve os trechos do alto e médio Rio Iguaçu (INGENITO *et al.*, 2004). Esta espécie de peixe apresenta características de boa sobrevivência em laboratório quando a densidade de estocagem for controlada (VILELA; HAYASHI, 2001).

Nos testes de genotoxicidade, foram utilizados 600 exemplares adquiridos de criadouro comercial. Os animais ficaram inicialmente em adaptação por 3 semanas no Laboratório de Saneamento da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), alojados em uma caixa d'água com capacidade de 310 L, em ambiente controlado para aclimação, respeitando o fotoperíodo (12 horas claro/12 horas escuro). Durante o período de ambientação os peixes foram alimentados com ração comercial a cada 24 h e o seu ambiente foi mantido limpo e com aeração constante.



Figura 11 – Foto ilustrativa do lambari *Astyanax sp*.
Fonte: Adaptado de Roberto Ferreira Artoni.

As análises de genotoxicidade foram desenvolvidas através do teste do micronúcleo písceo e do ensaio cometa que serão resumidamente descritas a seguir e que são apresentadas de forma integral nos APÊNDICES A e B.

3.6.2 Teste do micronúcleo písceo

Para verificar a frequência de micronúcleos em hemácias periféricas, foi empregada a técnica descrita por Heddle (1991) e Schmid (1975), com algumas modificações. Primeiramente as lâminas foram limpas e identificadas. Posteriormente coletou-se o sangue do animal e foi depositada uma gota na superfície da lâmina. Com o auxílio de uma lamínula fez-se o esfregão, com espalhamento do sangue sobre a superfície da lâmina que foi mantida ao ar livre para secarem por aproximadamente 12 h. Depois desse período as lâminas foram fixadas com etanol 96% por 30 min em cubetas. Para leitura das lâminas, estas foram coradas com Giemsa 10% diluída em solução tampão fosfato (pH 6,8) por 13 min e lavadas em água corrente.

Para a análise do micronúcleo foram consideradas 2000 células de cada animal em teste cego, sendo que somente foram consideradas hemácias nucleadas com membrana nuclear e citoplasmática intactas. Como micronúcleo foram consideradas as partículas que, em relação ao núcleo principal, não excederam 1/3 do seu tamanho e estavam nitidamente separadas, com bordas distinguíveis e com a mesma cor e refringência do núcleo. As observações foram feitas no microscópio tipo Leica DMLS com aumento de 400 x.

As alterações na forma elíptica normal dos núcleos das hemácias que não se enquadraram no conceito de micronúcleo, mas que poderiam ser descritas como alterações morfológicas nucleares também foram analisadas, conforme CARRASCO; TILBURY e MYERS (1990).

3.6.3 Ensaio Cometa

A técnica utilizada foi a descrita por Singh *et al.*, (1989) com algumas alterações. Antes da coleta do material para análise, foram preparadas as lâminas com cobertura de agarose, seguindo as etapas descritas no Apêndice F.

Para o ensaio cometa com sangue de lambaris, o procedimento para montagem das lâminas consistiu em coletar 10 µL de sangue de cada animal e misturar com 1 mL de soro bovino fetal. Desta solução, foram coletados 10 µL e misturados com 120 µL de agarose LMP – baixo ponto de fusão, previamente preparada e levemente aquecida (37 °C). Esta suspensão celular foi depositada sobre uma lâmina que já estava com a cobertura de agarose. Após a deposição, esta foi coberta com uma lamínula e levada a geladeira por 15 min.

Decorrido o tempo de refrigeração, as lamínulas foram gentilmente retiradas e as lâminas foram acondicionadas em cubetas contendo a solução de lise por 24 h.

Após o tempo na solução de lise, as lâminas foram transferidas para uma cuba horizontal de eletroforese. Quando necessário, os espaços existentes foram preenchidos com lâminas limpas. A cuba de eletroforese foi mantida sob-refrigeração e no escuro. Nesta cuba foi suavemente adicionada à solução tampão de eletroforese com pH maior que 13, de maneira a cobrir as lâminas. Antes do início da corrida eletroforética, as lâminas ficaram na solução de eletroforese por 30 min para a desespiralização do DNA. Em seguida, iniciou-se a corrida de eletroforese a 25 V e 300 mA por 25 mins. Após o tempo de corrida, as lâminas foram retiradas da cuba e neutralizadas com um tampão de neutralização (pH 7,5) por 5 min. Esse processo foi realizado em 3 seções, com 5 minutos para cada seção. Essa neutralização foi realizada aplicando-se diretamente o tampão sobre as lâminas com auxílio de uma pipeta sobre superfície plana. Após, esse procedimento as lâminas secaram em temperatura ambiente. Em seguida, foram fixadas em etanol 96% por 5 min e então guardadas para posterior coloração e visualização.

Para visualização do cometa, foi feita coloração da lâmina, com adição de 25 μ L de brometo de etídeo em cada lâmina. Cada lâmina foi coberta com uma lamínula e levada ao microscópio de epifluorescência com aumento de 400x. Neste microscópio foram analisados 100 nucleóides em cada lâmina. Os nucleóides foram classificados de acordo com o dano, conforme o comprimento da cauda formada após a corrida eletroforética. A classificação dos nucleóides foi realizada conforme as classes: 0 (sem dano aparente), 1 (dano pequeno), 2 (dano médio), 3 (dano máximo) e 4 (núcleo em apoptose), conforme Figura 2. Foi realizada a quantificação dos tipos de danos e a atribuição de escores em cada classe.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Para avaliar a distribuição dos compartimentos nos processos de tratamento, foi utilizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando o pacote STATISTICA (Statsoft Inc., 1996). Foram incluídos dados das variáveis físicas, químicas e biológicas do efluente e da água do corpo receptor, sendo que, para reduzir a dimensionalidade dos dados, todas as variáveis, exceto pH foram previamente log transformadas.

Para chegar aos escores do ensaio cometa, os resultados obtidos na leitura das lâminas foram submetidos a uma análise estatística com base na frequência de cada classe de dano. O índice de dano foi estimado com base na multiplicação do número de células

observadas em cada classe pelo valor atribuído a esta, obtendo-se assim o escore, conforme a equação:

Índice de dano: $(0 \times A) + (1 \times B) + (2 \times C) + (3 \times D) + (4 \times E)$, onde, A, B, C, D e E, são os números de células encontradas para cada categoria analisada. Assim, o índice de dano pode variar de 0 a 400.

Os escores obtidos através da multiplicação do número de cometas encontrados em cada classe pelo valor da classe e a soma dos micronúcleos písceos encontrados com alterações cromossômicas em cada peixe, foram analisados no programa BioEstat 5 através do teste estatístico de *Kruskal-Wallis*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

A geração de efluentes, englobando a higienização do processo produtivo e os processos auxiliares, conforme informações levantadas junto a indústria, somam em média 2,8 m³ por animal abatido e, considerando o abate médio de 800 animais/dia, operando 12 horas por dia, tem-se vazão média de 187 m³/hora de afluente no sistema de tratamento, confirmando assim, o grande consumo de água nas diversas etapas do processo (BRAILE; CAVALCANTI, 1993; ESPINOZA *et al.*, 1998; PACHECO; YAMANAKA, 2006; SCHOENHALS, 2006; RATTI; PASSIG, 2007; KRIEGER, 2007; PETERLINI, 2012).

Para melhor entendimento das concentrações existentes nos efluentes das duas indústrias, primeiramente, foi efetuada uma coleta teste e analisados os parâmetros: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, DQO e DBO_{5,20} conforme Quadro 5. Caracterizar o efluente bruto auxilia no dimensionamento da ETE e facilita a elaboração do protocolo de análises, ou seja, têm-se conhecimento de quanto é necessário diluir uma amostra para efetuar a sua caracterização.

Cabe ressaltar que as discussões sobre estes dados foram baseadas nos parâmetros estabelecidos pelas Resoluções CONAMA n° 357, de 2005 e CONAMA n° 430, de 2011, uma vez que não foi possível ter acesso aos parâmetros de lançamento estabelecidos pelo IAP na ocasião da Licença de Operação das duas indústrias.

No Quadro 5 observam-se os resultados das análises físico-químicas da coleta teste.

RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO - QUÍMICAS					
COLETA TESTE EM 20.09.2012		INDÚSTRIA A		INDÚSTRIA B	
		(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	27,5	20,5	26,7	21,3
pH	unid.de pH	7,02	6,77	6,80	6,30
OD	mg.L ⁻¹	0,34	1,27	0,28	1,44
DQO	mg.L ⁻¹ O ₂	8680	24	7620	37
DBO_{5,20}	mg.L ⁻¹ O ₂	6200	6	5320	12

Quadro 5 – Variação das concentrações do pH, oxigênio dissolvido, DQO e DBO_{5,20}.

Nos dois casos em estudo, a DQO foi menor que o dobro da DBO_{5,20}, confirmando que grande parte da matéria orgânica presente nas lagoas é biodegradável. Constata-se também, para os dois estabelecimentos, valores de pH próximo do valor neutro para o efluente bruto, outra condição apropriada para os processos biológicos, sobretudo anaeróbio (SPEECE, 1996).

Nos Quadros de 6 a 21 observam-se os resultados das análises física, química e microbiológica efetuadas durante a pesquisa na Indústria A e B respectivamente.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 08/03/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	20,3	18,5	17,4	15,4
pH	unid.de pH	7,08	6,77	5,78	6,68
OD	mg. L ⁻¹	0,68	1,10	6,85	6,06
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	580,0	327,0	72,5	118,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	832,0	398,2	48,7	97,6
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	882,0	22,5	9,5	13,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	456,0	86,0	4,8	12,1
N Total	mg. L ⁻¹	18,42	13,45	2,07	11,82
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	24,5	23,9	1,39	2,56
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.3x10 ⁵	3.5x10 ⁵	6.8x10 ³	1.9x10 ⁴

Quadro 6 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 08/03/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 05/04/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	22,3	19,5	18,3	20,4
pH	unid.de pH	6,2	7,50	6,08	8,0
OD	mg. L ⁻¹	0,12	0,99	8,6	7,7
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	600,0	340,0	80,0	80,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	845,07	478,87	56,33	112,67
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	949,0	29,0	12,0	17,0
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	495,0	90,0	3,7	15,2
N Total	mg. L ⁻¹	16,37	12,35	1,97	10,75
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	23,5	22,8	0,8	1,2
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.2x10 ⁵	7.4x10 ⁵	6.9x10 ³	1.8x10 ⁴

Quadro 7 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 05/04/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 10/05/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	21,4	22,4	23,8	24,2
pH	unid.de pH	7,32	8,80	8,65	7,59
OD	mg. L ⁻¹	0,17	4,50	8,6	3,18
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	620,0	350,0	92,0	87,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	856,0	488,85	77,31	118,63
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	675,0	105,0	11,0	132,1
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	630,0	118,0	6,2	13,1
N Total	mg. L ⁻¹	18,47	17,55	1,97	15,55
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	21,5	19,8	0,7	2,97
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	7.3x10 ⁵	7.2x10 ³	1.9x10 ⁴

Quadro 8 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 10/05/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 14/06/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	17,5	16,5	14,3	16,1
pH	unid.de pH	7,45	7,52	6,13	8,19
OD	mg. L ⁻¹	0,18	0,97	8,1	3,25
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	590,0	338,0	88,0	78,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	841,05	512,85	63,29	114,27
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	829,0	32,7	16,0	39,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	480,0	112,0	7,3	10,3
N Total	mg. L ⁻¹	19,27	18,55	1,27	14,55
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	20,1	21,9	0,9	3,05
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	7.2x10 ⁵	6.8x10 ³	1.7x10 ⁴

Quadro 9 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 14/06/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 12/07/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	27,4	16,4	14,5	16,3
pH	unid.de pH	7,50	6,77	6,09	8,5
OD	mg. L ⁻¹	0,15	0,69	8,7	3,7
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	609,0	348,0	83,0	77,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	838,0	427,57	61,53	102,65
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	941,0	105,0	15,0	78,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	487,0	109,0	4,9	7,6
N Total	mg. L ⁻¹	18,47	18,35	1,57	13,79
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	21,6	23,9	0,98	1,5
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	7.1x10 ⁵	6.7x10 ³	1.8x10 ⁴

Quadro 10 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 12/07/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 09/08/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	18	18,5	17,3	17,4
pH	unid.de pH	7,55	7,58	6,10	8,5
OD	mg. L ⁻¹	0,23	1,05	8,10	3,30
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	580,0	329,0	78,0	101,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	839,00	475,57	66,35	115,69
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	945,0	27,5	19,5	33,2
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	518,0	88,0	5,02	5,8
N Total	mg. L ⁻¹	16,57	13,13	1,99	9,71
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	23,5	21,8	1,8	1,97
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.2x10 ⁵	7.3x10 ⁵	6.7x10 ³	1.9x10 ⁴

Quadro 11 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 09/08/2013

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 27/09/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	21,3	18,3	17,4	19,4
pH	unid.de pH	7,56	7,49	6,12	7,88
OD	mg. L ⁻¹	0,15	1,1	7,8	4,05
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	612,0	359,0	82,0	87,5
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	839,3	459,89	62,5	109,5
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	878,3	57,2	15,3	37,5
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	498,0	99,5	5,8	8,6
N Total	mg. L ⁻¹	19,26	15,37	2,01	15,97
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	22,1	25,9	1,1	3,2
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.3x10 ⁵	7.6x10 ⁵	6.8x10 ³	1.9x10 ⁴

Quadro12 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 27/09/2013.

INDÚSTRIA A		DATA COLETA: 17/10/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	20,3	19,2	18,4	20,4
pH	unid.de pH	7,10	7,309	6,50	6,30
OD	mg. L ⁻¹	0,12	0,90	9,0	3,50
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	615,0	419,0	91,5	105,1
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	842,1	515,3	79,6	119,9
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	995,7	63,52	13,3	70,2
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	459,2	91,5	4,7	6,71
N Total	mg. L ⁻¹	17,5	15,22	1,97	16,13
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	23,9	28,7	2,9	2,98
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	7.9x10 ⁵	6.5x10 ³	1.3x10 ⁴

Quadro 13 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 17/10/2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 15/03/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	25,5C	22,3	23,0	22,7
pH	unid.de pH	7,1	6,3	6,05	6,5
OD	mg. L ⁻¹	0,13	5,45	4,89	1,80
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	85,0	25,0	68,0	80,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	142,0	76,6	49,2	81,3
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	556,0	39,0	39,0	42,0
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	158,7	83,0	56,86	10,22
N Total	mg. L ⁻¹	14,65	12,56	3,87	9,02
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	28,9	26,3	1,12	22,6
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.8x10 ⁵	3.2x10 ⁵	2.7x10 ⁵	1.1x10 ⁶

Quadro14 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 15/03/2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 12/04/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	23,5	21,2	22,0	22,5
pH	unid.de pH	7,5	6,9	6,15	6,8
OD	mg. L ⁻¹	0,19	5,44	9,31	0,90
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	120,0	60,0	40,0	60,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	169,01	84,50	56,38	84,50
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	921,5	39,0	35,00	58,0
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	161,25	75,0	120,0	11,0
N Total	mg. L ⁻¹	13,67	11,86	3,47	8,58
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	25,1	23,5	1,05	19,9
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.6x10 ⁵	3.7x10 ⁵	2.8x10 ⁵	1.0x10 ⁶

Quadro 15 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 12.04.2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 10/05/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	22,5	21,3	22,7	22,9
pH	unid.de pH	7,3	6,8	6,25	6,9
OD	mg. L ⁻¹	0,21	5,47	8,41	1,9
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	127,0	58,0	47,0	65,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	179,05	86,53	67,48	96,70
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	927,8	57,0	36,7	68,0
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	171,37	87,7	119,2	6,8
N Total	mg. L ⁻¹	15,67	12,92	2,27	8,73
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	23,1	25,2	2,73	27,9
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	3.1x10 ⁵	2.9x10 ⁵	1.1x10 ⁶

Quadro 16 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 10/05/2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 14/06/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	18,5	17,5	17,3	15,5
pH	unid.de pH	7,8	7,2	6,42	7,5
OD	mg. L ⁻¹	0,19	5,65	9,31	1,3
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	117,5	71,6	39,70	67,5
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	158,02	97,30	65,28	86,3
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	879,01	43,5	22,5	59,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	183,9	95,7	115,3	5,7
N Total	mg. L ⁻¹	18,51	13,87	4,47	9,21
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	26,1	29,5	3,2	22,59
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.46x10 ⁵	3.9x10 ⁵	2.3x10 ⁵	1.6x10 ⁶

Quadro 17 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 14/06/2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 19/07/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	19,0	18,5	16,4	18,9
pH	unid.de pH	7,37	6,59	7,53	7,80
OD	mg. L ⁻¹	0,48	6,52	7,52	4,02
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	121,0	69,0	57,0	65,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	225,32	79,6	49,51	91,3
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	982,0	59,5	19,5	63,1
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	191,59	81,3	117,3	11,9
N Total	mg. L ⁻¹	17,49	12,49	3,09	13,81
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	26,5	24,9	2,39	22,59
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.0x10 ⁵	3.4x10 ⁵	6.5x10 ³	6.3x10 ⁴

Quadro 18 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 19/07/2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 09/08/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	18,1	18,3	17,2	17,4
pH	unid.de pH	7,56	7,36	6,52	7,59
OD	mg. L ⁻¹	0,48	5,52	7,52	3,91
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	123,0	69,0	72,5	69,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	188	87,3	48,7	98,6
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	986,0	51,7	9,5	65,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	173,56	86,3	125,0	8,8
N Total	mg. L ⁻¹	28,42	12,45	2,07	9,27
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	23,5	25,91	1,39	31,2
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.5x10 ⁵	3.8x10 ⁵	6.8x10 ³	1.9x10 ⁴

Quadro 19 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 09.08.2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 27/09/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	21,8	18,7	17,6	14,4
pH	unid.de pH	7,08	6,77	5,78	7,89
OD	mg. L ⁻¹	0,65	5,27	8,85	1,3
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	126,5	67,3	32,5	65
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	179,9	89,7	68,7	96,6
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	953,21	72,5	39,5	68,7
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	149,57	86,3	119,21	6,8
N Total	mg. L ⁻¹	19,41	15,21	2,27	8,73
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	27,3	24,9	2,93	27,9
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.1x10 ⁵	3.0x10 ⁵	6.5x10 ³	1.3x10 ⁴

Quadro 20 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 27.09.2013.

INDÚSTRIA B		DATA COLETA: 17/10/2013			
Parâmetros	Unidades	(P1) Saída lagoa anaeróbia	(P2) Efluente final	(P3) Montante do rio	(P4) Jusante do rio
Temperatura	°C	22,7	19,3	18,,6	17,3
pH	unid.de pH	7,08	6,80	6,5	6,85
OD	mg. L ⁻¹	0,80	5,40	8,85	3,29
Alcalinidade total	mg. L ⁻¹	121,0	79,3	39,3	61,0
Ácidos voláteis	mg. L ⁻¹	191,3	90,1	59,2	91,3
DQO	mg. L ⁻¹ O ₂	932,01	81,5	42,15	73,57
DBO_{5,20}	mg. L ⁻¹ O ₂	133,2	96,5	115,5	7,8
N Total	mg. L ⁻¹	21,3	18,31	2,22	12,3
Fósforo Total	mg. L ⁻¹	32,1	29,1	5,32	32,5
Coliformes totais	.10 ³ NMP/100mL	8.5x10 ⁵	3.3x10 ⁵	6.3x10 ³	1.1x10 ⁴

Quadro 21 – Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas efetuada em 17.10.2013.

Nas Figuras 12 (a) e (b) apresentam-se as variações de temperatura nos pontos das coletas para as indústrias A e B durante o período experimental.

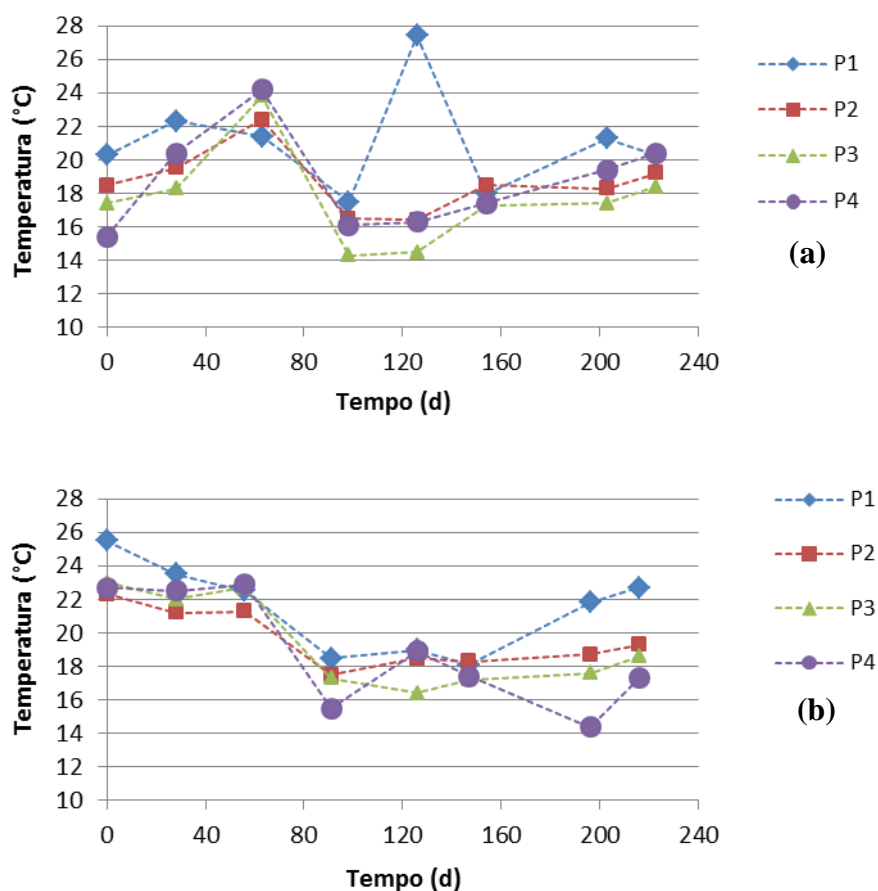


Figura 12 - Variação de temperatura do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Observa-se que a temperatura do efluente e da água, nos períodos das coletas, teve pouca variação entre as estações do ano, exceto na Indústria A na coleta de julho (120 dias), na saída da lagoa anaeróbia, onde a mesma ficou em 27,4 °C, dentro da faixa de temperatura preconizada pela legislação. Portanto no ponto de coleta (P4) a variação de temperatura não excedeu os 3 °C quando comparado ao (P3) do corpo receptor, no limite da zona de mistura CONAMA n°430 (2011).

A temperatura é um parâmetro que tem relação com o oxigênio dissolvido e também com a cinética de degradação e crescimento dos microrganismos. É um dos fatores que influenciam a densidade bacteriana. O aumento da temperatura está diretamente relacionado à velocidade das reações no ambiente aquático, principalmente nas de decomposição de compostos orgânicos (ESTEVES, 1998).

Nas Figuras 13 (a) e (b) são apresentados os resultados do parâmetro pH nos pontos das coletas para as indústrias A e B durante o período experimental.

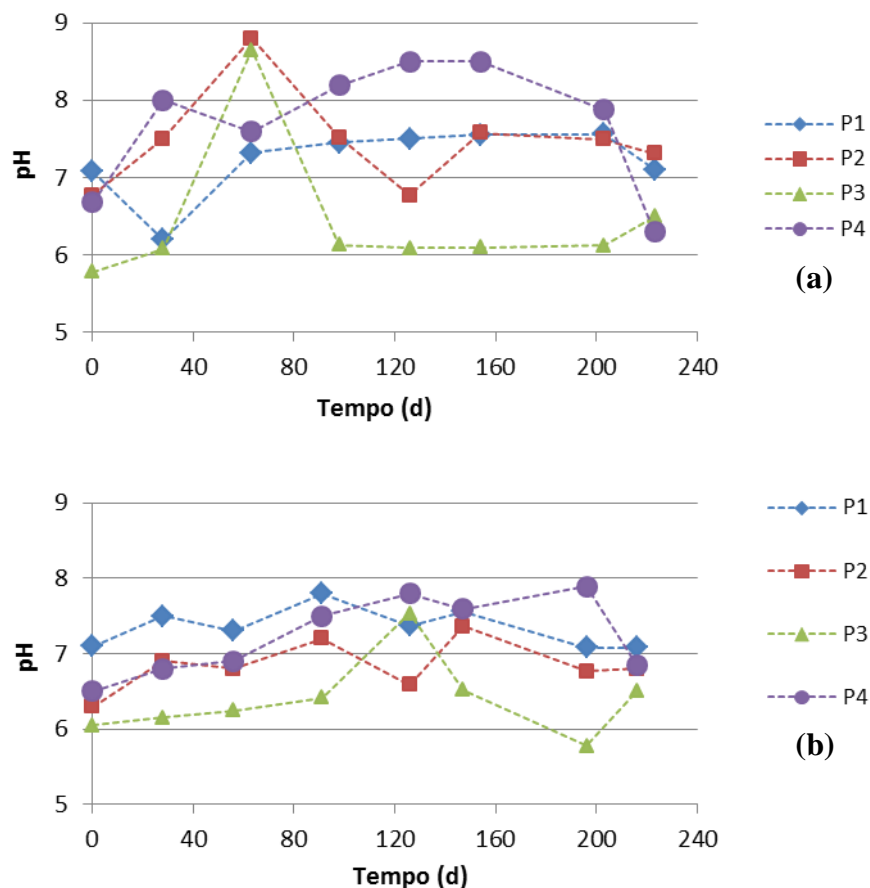


Figura 13 - Variação do parâmetro pH do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Inicialmente, ao se analisar os resultados de pH obtidos na Indústria A, verificou-se que na saída da lagoa anaeróbia o valor médio ficou em torno de 7,45 e, portanto, muito próximo do ponto de neutralidade. Observou-se uma pequena variação entre os pontos de coleta, estando esse parâmetro dentro do que preconiza a legislação através das Resolução CONAMA n^os 357/05 e 430/11, no seu artigo 34, estabelecendo para lançamento de efluentes líquidos pH entre 5,0 e 9,0. Nesta faixa de valor o efluente apresenta uma solução básico-alcalina o que favorece o bom funcionamento do sistema de tratamento secundário. Por outro lado, ARRUDA (2004) comenta que encontrou valores para o parâmetro pH

abaixo de 5,60 para efluente de matadouros. Estes valores são menores que os encontrados neste trabalho.

Foram observados na Indústria A alguns valores de pH inferiores a 7, o que sugere a existência de sobrecarga orgânica na lagoa. Isto pode ser justificado pelo fato de alguns dias antes ter ocorrido a semana da Páscoa, em que a indústria abateu acima da sua capacidade e com isso o tempo de detenção hidráulica real foi menor que o TDH de projeto. A observação deste fato sugere que, nessa ocasião, o efluente permaneceu no sistema de tratamento por menos tempo do que o necessário.

Por outro lado, na coleta de maio (80 dias) obteve-se o valor de 8,8 na medição do pH, na saída do sistema (P2), que é um valor acima do ponto de neutralidade. Através da análise da rotina de funcionamento do processo produtivo da empresa, surgiram indícios de que essa elevação do pH pode ter ocorrido devido a utilização de produtos para limpeza à base de hidróxido de sódio (soda).

Já no ponto de coleta (P3) e (P4) a montante e jusante do lançamento da Indústria A, o pH encontrado foi de 8,65 (23,8°C) e 8,50 (16,9°C). Os valores nestes pontos de coletas podem ter sido encontrados devido as coletas terem sido realizadas próximas a uma zona de estagnação. Zonas de estagnação favorecem o crescimento de algas que consomem CO₂ e elevam o pH do meio (SPERLING, 2003).

Outro fator a ser considerado nas duas indústrias é que nos pontos de coletas (P3) e (P4) havia extenso crescimento de algas, que consomem carbono inorgânico e consequentemente ocorre aumento do pH. É importante ressaltar que os valores de pH foram medidos nas superfícies da lagoa, em pontos determinados. Pontos mais profundos estão mais próximos dos locais onde ocorre a decomposição anaeróbia e, portanto, o pH deve se apresentar menor do que o observado na superfície.

Nas Figuras 14 (a) e (b) observam-se os resultados do parâmetro oxigênio dissolvido das Indústrias A e B, respectivamente.

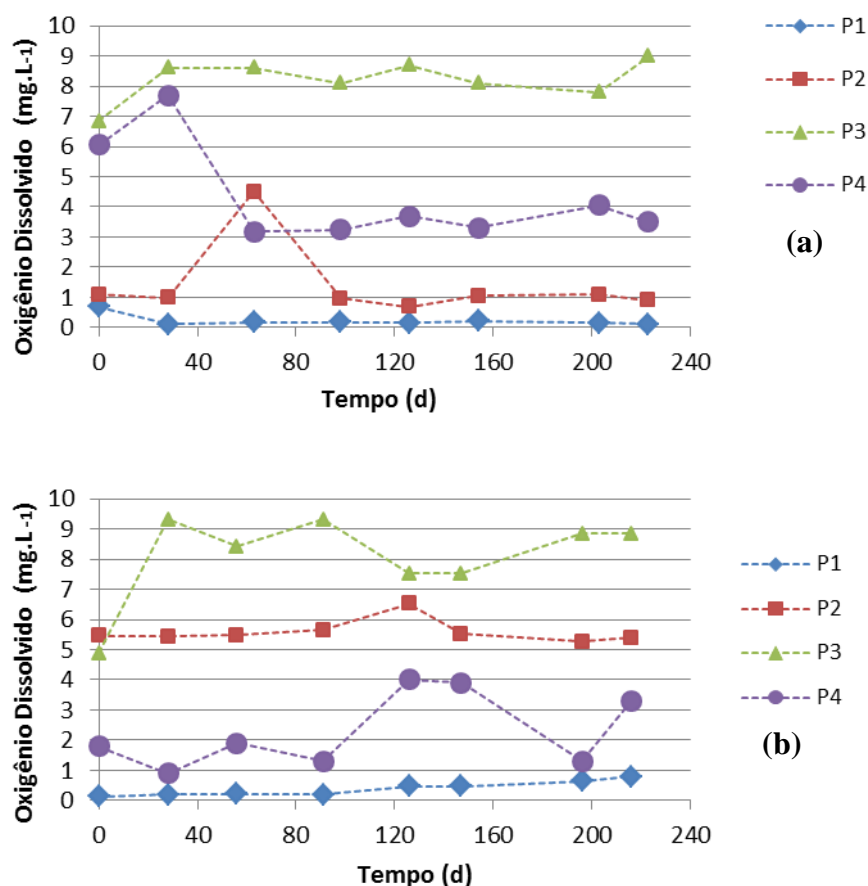


Figura 14 - variação das concentrações de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

A concentração de oxigênio dissolvido encontrava-se bastante reduzida em todas as amostras analisadas da Indústria A, exceto a montante do rio (P3) que foi encontrado valores da ordem de 6 a 9 mg.L^{-1} . Estes valores reforçam Toledo; Nicolella (2002) e Sardinha *et al.* (2008) que avaliaram o índice de qualidade da água em microbacias de uso agrícola e urbano em Guaíra/SP e Ribeirão do Meio, Leme/SP e encontraram valores próximos a 6,5 mg.L^{-1} a montante do lançamento e valores menores após as cidades da ordem de 1,5 mg.L^{-1} . Este valor encontrado a jusante do lançamento é portanto, bem inferior aos valores encontrados neste estudo a montante (P3). Isto deve-se especialmente na Indústria A, ao fato de não ter sido encontrado despejos de origem doméstica e a presença de mata ciliar preservada, que colaborou na filtração de possíveis despejos.

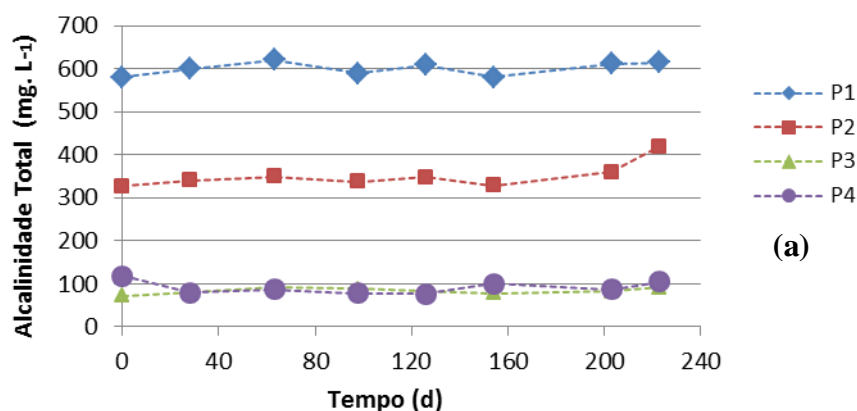
Foi observado que, em sete períodos de coletas (de um total de oito) o OD no ponto (P2) apresentou valores inferiores a 5,0 mg.L^{-1} , que é o valor mínimo recomendado para

lançamento de efluentes pelas resoluções CONAMA n^os 357, de 2005 e 430, de 2011 para corpos hídricos Classe II. O valor mais elevado neste ponto foi de 4,50 mg.L⁻¹, para uma temperatura de 22,4°C na coleta de 10/05, e o mais baixo foi de 0,69 mg.L⁻¹, na coleta de 12/07 para uma temperatura de 16,4°C. Constatou-se que não houve relação desse parâmetro com a temperatura da água, nas ocasiões da amostragem. A incidência de OD abaixo de 5,0 mg.L⁻¹, ocorreu tanto em épocas da estação quente, quanto fria.

Segundo Cunha; Ferreira (2006) e Froehner; Martins (2008) a redução do oxigênio dissolvido decorre da oxidação da matéria orgânica pelos decompositores. Reidal *et al.* (2005) encontraram valores no efluente final, em torno de 1,35 mg.L⁻¹ para OD em efluentes oriundos do abate de aves e suínos tratados em sistemas de lagoas de estabilização. No entanto, também, observou-se durante a coleta de junho de 2013, que a vazão do corpo hídrico, utilizado para lançamento da Indústria A estava visualmente abaixo do padrão normal e por consequência não estava colaborando para a dissolução do efluente lançado.

Na Indústria B verificou-se um valor de OD superior ao da Indústria A em (P2), fato este atribuído ao emprego dos aeradores. No entanto a jusante do lançamento (P4), o OD voltou a cair, para valores abaixo de 5,0 mg.L⁻¹. Constatou-se que possivelmente isto tenha ocorrido devido ao efluente percorrer, antes do ponto de coleta (P4), uma pequena “valeta” aberta sob uma área com densa vegetação e criação de gado, que recebe além do efluente, material orgânico como restos de grama, folhas e esterco dos animais, que ao misturar-se com o efluente, foram transformados em alimento para inúmeras bactérias, fungos e outros consumidores e neste processo biológico de nutrição e respiração tenha ocorrido o consumo de OD.

Nas Figuras 15 (a) e (b) têm-se os resultados das análises da alcalinidade total.



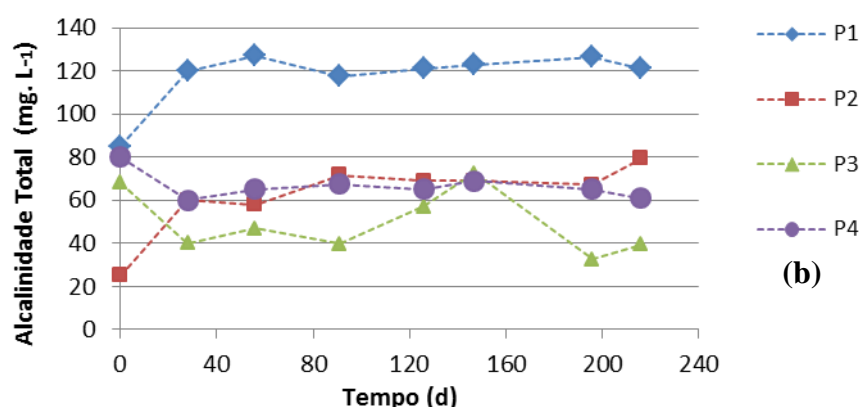


Figura 15 - variação das concentrações de alcalinidade ($\text{mg. CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Na Indústria A foram encontrados valores para alcalinidade que variam de 580 a 620 mg.L^{-1} em (P1) e de 327 a 348 mg.L^{-1} na saída do sistema (P2). Os valores encontrados em (P2), na saída do sistema de tratamento, são coerentes com Sperling, (1996), segundo o qual, em efluentes industriais a alcalinidade é alta devido a presença de silicatos e fosfatos, geralmente utilizados na formulação de produtos para limpeza.

Valores de alcalinidade total maiores no efluente que no afluente significam que a remoção de ácidos voláteis ao longo do processo anaeróbico pode ter sido razoavelmente efetiva (BARBOSA *et al.*, 2009).

Os valores de alcalinidade total encontrados na Indústria B demonstraram ser inferiores aos da Indústria A, que para (P1) foi de 85 a 126,5 mg.L^{-1} e para (P2) de 25 a 71,6 mg.L^{-1} . A redução da alcalinidade nesta indústria pode ter provocado a diminuição da capacidade de tamponamento do meio, ou seja, a capacidade que o efluente tem para evitar a queda do pH (CETESB, 1993). Este tamponamento garante a estabilidade do processo de biodegradação, sem a adição de produtos químicos. Este fato aponta para a provável necessidade do emprego de aeradores para auxiliar na degradação.

Quanto aos pontos de coleta (P3) e (P4) da Indústria B, a montante e a jusante do lançamento, observou-se um aumento da alcalinidade a jusante em relação a montante do lançamento da ordem de 56%. Segundo Metcalf; Eddy (1991), quando o processo de digestão está ocorrendo de forma satisfatória, a alcalinidade terá valores entre 1000 e 5000 mg.L^{-1} e a concentração de ácidos voláteis deverá ser menor que 250 mg.L^{-1} .

Nas Figuras 16 (a) e (b) verificam-se os resultados das análises do parâmetro ácidos voláteis na Indústria A e B.

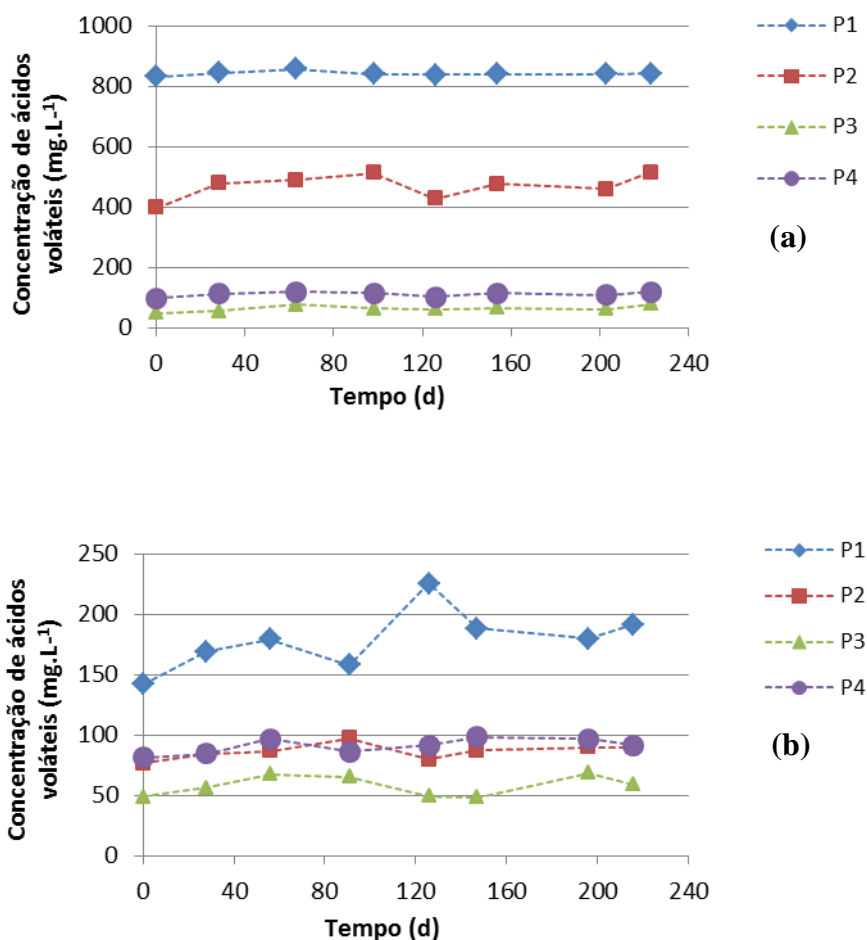


Figura 16 - variação das concentrações dos ácidos voláteis (mg.L^{-1}) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Ao serem analisarmos os resultados da concentração de ácidos voláteis nas duas indústrias verifica-se percentuais em média de 800 mg.L^{-1} para Indústria A e de 180 mg.L^{-1} para Indústria B. Estes percentuais ficaram bem abaixo, quando analisamos os resultados da Indústria A, do recomendado por Metcalf; Eddy (1991), para efluentes domésticos, que foi de 250 mg.L^{-1} para que o processo de digestão esteja sendo realizado de forma satisfatória. Imolene *et al.* (2001) encontrou para efluentes de frigoríficos tratados por sistemas de lagoas $781,1 \text{ mg.L}^{-1}$. Portanto os valores encontrados na Indústria B estão próximos aos encontrados em esgoto sanitário por Metcalf; Eddy (1991). Já os da Indústria A vem de encontro com a pesquisa feita por Imolene *et al.*, (2001).

Na Figura 17 (a), (a1) e (b) (b1) verificam-se os resultados do parâmetro DQO da Indústria A e B nos pontos de coletas: (P1) lagoa anaeróbia, (P2) saída da ETE, (P3) montante do rio e (P4) jusante do rio.

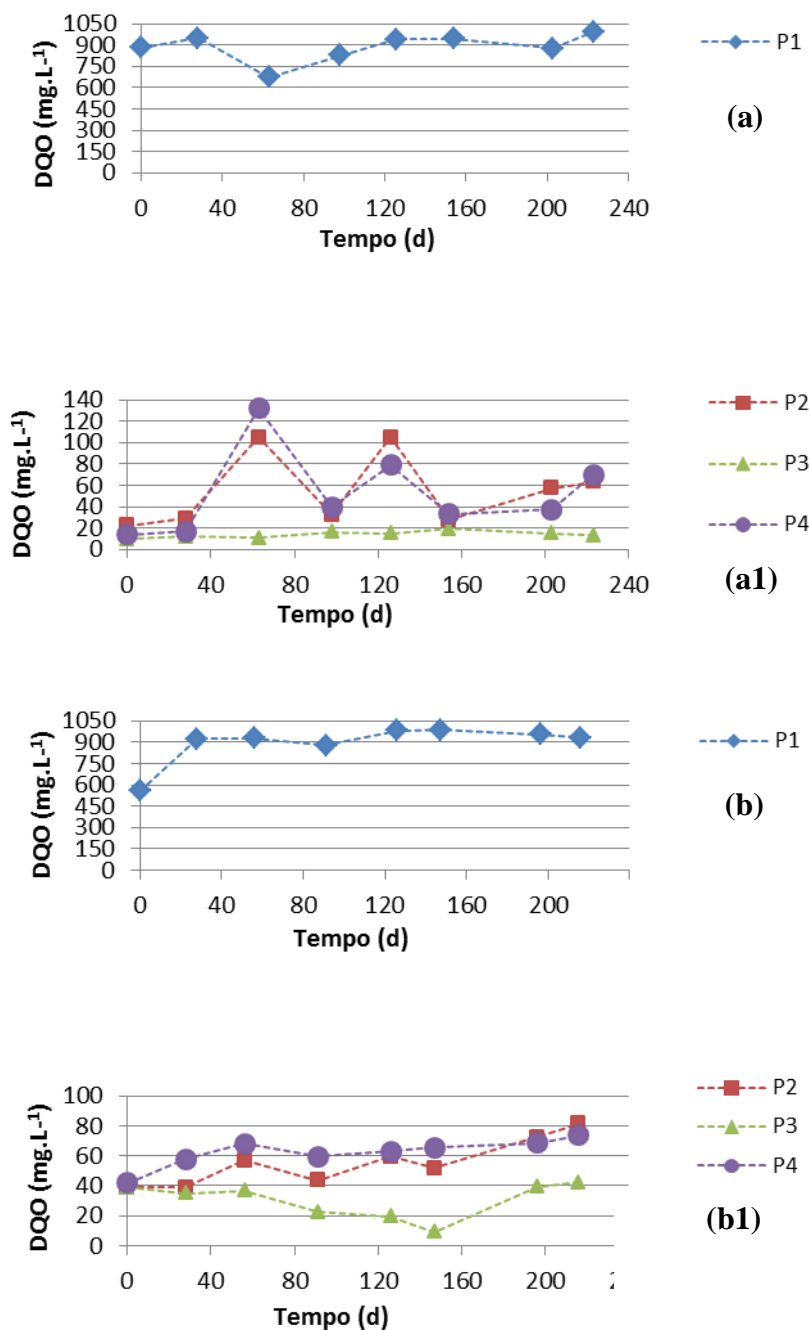


Figura 17 - variação da concentração de DQO (mg.L⁻¹) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Os valores de DQO encontrados nas duas indústrias, nos pontos (P1) e (P2) para as diversas datas de coletas, apresentaram discrepâncias entre si, fato este já esperado uma vez que a oscilação do volume de abate, limpeza das instalações, entre outros fatores podem alterar este parâmetro.

A concentração de matéria orgânica em termos de DQO variou de 675 a 941 mg.L⁻¹ na Indústria A e em 556 a 982 mg.L⁻¹ na Indústria B. Para o ponto (P2) na Indústria A, a DQO variou de 22,5 mg.L⁻¹ a 105 mg.L⁻¹ e na Indústria B, de 39 a 72,5 mg.L⁻¹. Estes valores demonstraram que houve um valor médio de redução de (P1) para (P2) da ordem de 93,7% nas duas indústrias. Caixeta *et al.* (2000); Pereira *et al.* (2011) obtiveram reduções entre 90,6% e 92% para efluente de abatedouro de bovinos e suínos com biodigestor UASB e reator anaeróbio compartilhado mais UASB, respectivamente.

Variações nas caracterizações dos efluentes da indústria frigorífica tem sido uma constante nas pesquisas, dentre as quais pode-se citar: Morales (2006) que obteve DQO de 589 mg.L⁻¹ na saída da lagoa de polimento, valor considerado alto e justificado devido ao fato de os reatores estarem em início de operação; Manjunath *et al.* (2000) obtiveram valores que variaram de 1.100 a 7.250 mg.L⁻¹, Pacheco; Yamanaka (2006) obtiveram valores que variaram entre 5.200 a 6.700 mg.L⁻¹.

Nota-se que o valor para DQO encontrado em (P2) foi superior ao encontrado a montante do rio (P3). Tal fato era esperado, principalmente para a Indústria A, uma vez que o Rio Miringuava apresenta a montante do lançamento uma mata ciliar preservada e não foram constatados despejos clandestinos. No ponto (P4), a jusante do lançamento, a DQO foi superior ao ponto (P3). Como a distância entre os pontos montante e jusante é de aproximadamente 400 metros e não foi identificado nenhum lançamento pontual neste percurso, conclui-se que o aumento ocorrido na DQO no corpo receptor das duas indústrias, a jusante em comparação ao de montante, tenha sido a contribuição do lançamento dos efluentes líquidos das próprias indústrias.

Embora o corpo receptor tenha uma boa capacidade de autodepuração devido á sua vazão, em especial o Rio Miringuava, que possui uma média de 898 L/s, no momento da coleta das amostras é provável que este manancial não estivesse conseguindo diluir satisfatoriamente o efluente no trecho em estudo, em razão de não ter havido chuvas nos dias que antecederam a coleta.

Na Figura 18 (a) e (b) verifica-se a variação temporal no parâmetro $DBO_{5,20}$, para a indústria A e B.

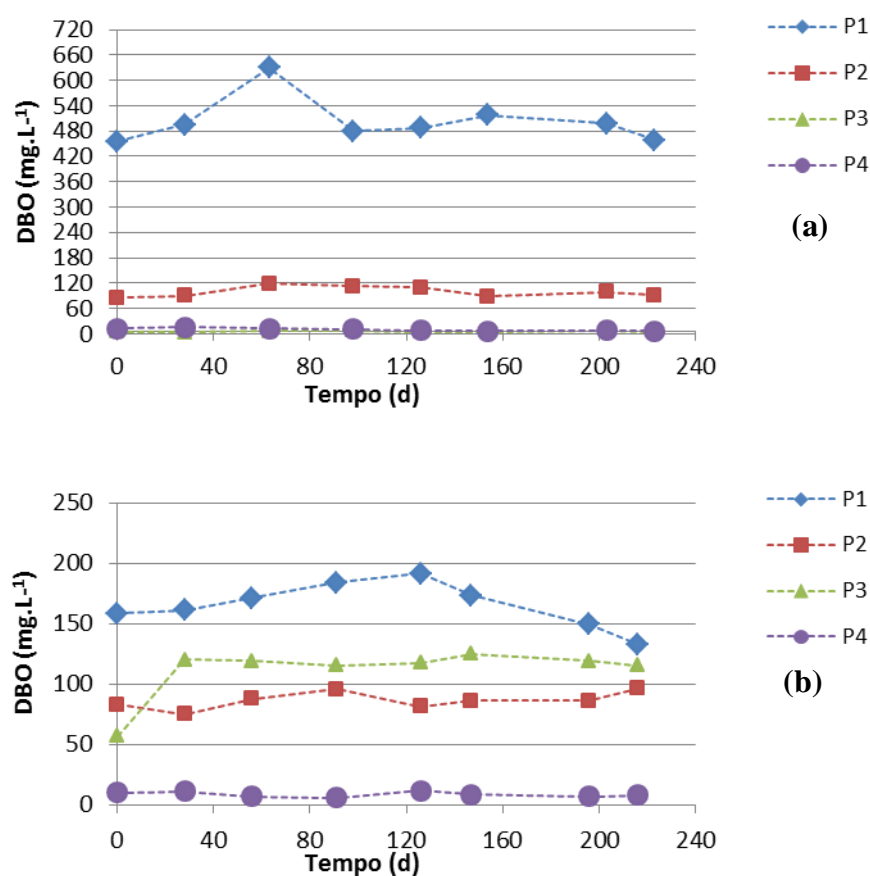


Figura 18 - Variação da $DBO_{5,20}$ (mg.L⁻¹) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Os resultados encontrados para $DBO_{5,20}$, em (P1) na Indústria A foram, na média, de 509 mg.L⁻¹. Em comparação com o resultado obtido na coleta teste para o efluente bruto, que foi de 6.200 mg.L⁻¹, observa-se que esta etapa do tratamento apresentou no momento da coleta eficiência média de 91%. No entanto deve-se considerar que este percentual representou um momento pontual, visto que diversos estudos apontam que nesta fase de tratamento as eficiências variam de 70 a 80% (SPERLING, 2002).

Para o ponto (P2), saída do tratamento, os valores encontrados nos dias das coletas variaram de 86 mg.L⁻¹ a 118 mg.L⁻¹. Já na coleta teste este valor ficou em 24,0 mg.L⁻¹. Os resultados de $DBO_{5,20}$ não atendem ao padrão para corpos hídricos classe 2, de 5,0 mg/L⁻¹ 1O_2 (Brasil, 2005 e 2011), sendo muito superiores a este. Estes dados demonstram que este parâmetro pode variar significativamente e esta variação sugere que podem ter ocorrido

vários dias com oscilação no abate, fato este constatado nas visitas técnicas e nos dias das coletas das amostras. Esta oscilação no abate também pode ter influenciado a vazão de efluente entrando na ETE. Uma vazão de efluente acima da capacidade instalada reduz o TDH em todas as fases e pode ter contribuído para o não atendimento do parâmetro DBO_{5,20}. Thebaldi *et al.* (2010) em um estudo sobre a qualidade da água de um córrego sob influência de efluente tratado de abate bovino, também constataram que a variação no abate afetou o sistema de tratamento resultando em não atendimento aos limites estabelecidos pelo CONAMA, para águas doces de classe 2 e 3 para o parâmetro DBO, que é de 5,0 mg.L⁻¹. Ou seja, no presente estudo o parâmetro DBO_{5,20} apresentou nos dias das coletas valores acima do permitido pela Resolução CONAMA na ordem de 95%.

Como consequência do lançamento acima do permitido, o ponto de coleta (P4) a jusante do lançamento apresentou valores entre 5,8 a 15,2 mg.L⁻¹. Isto sugere que o efluente lançado está proporcionando um aumento na DBO_{5,20} a jusante do lançamento. Ao compararmos os valores entre o ponto (P3) a montante e (P4) a jusante o aumento do parâmetro DBO_{5,20} a jusante do lançamento ficou aproximadamente em 64% acima do ponto a montante.

Verificou-se que a DBO_{5,20}, na Indústria B apresentou redução de 120 mg.L⁻¹ (montante/P3) para 40 mg/L (jusante/P4). Tal fato, em uma análise isolada dos números, nos leva a crer que o sistema de tratamento de efluentes desta indústria está colaborando para uma redução da DBO_{5,20} do rio, a jusante do lançamento. No entanto, acima do ponto (P3) encontra-se uma lagoa de cultivo de peixes e estes são alimentados com ração que contribui para a elevação da DBO_{5,20} neste ponto. Outro fato a ser considerado, que também justifica os números anteriormente citados, é que os pontos identificados como montante (P3) e jusante (P4), conforme Figura 7, são distantes entre si e o efluente tratado (P2) só encontra novamente o rio a 1 km adiante, ou seja, no ponto P4 (jusante do lançamento). Portanto, a qualidade da água do ponto a jusante do lançamento não sofre a interferência do ponto P3 a montante, no local escolhido para coleta.

Nas duas indústrias os resultados obtidos para DBO_{5,20} confirmaram o descrito por diversos autores, dentre os quais Niemerow (1997) que relata que os principais setores que colaboram para a elevação deste parâmetro são a sala de sangria na qual é gerado um efluente de 32.000 mg.L⁻¹ e a manipulação de barrigada de até 13.200 mg.L⁻¹. Já Braile; Cavalcanti (1993) encontrou variação entre 800 a 32.000 mg/L.

Entretanto, a média da relação DQO/DBO_{5,20} para a saída do tratamento (P2) nas Indústrias A e B ficaram em 0,535 e 0,635 mg.L⁻¹, respectivamente, demonstrando indícios de problemas nos sistemas de tratamento, pois a tendência é que haja aumento desta relação ao final do tratamento biológico devido à redução da fração biodegradável, ao passo que a fração de matéria orgânica inerte (também oxidada no teste de DQO) deve permanecer praticamente inalterada. Sperling (2002) comenta que efluente do final de tratamento biológico possui valores de DQO/DBO_{5,20} superiores a 3 e quanto maior for a eficiência do tratamento maior é a relação DQO/DBO_{5,20} sendo que esta relação pode chegar de 5 a 7.

Na Figura 19 (a) e (b) têm-se os resultados do parâmetro nitrogênio total das duas indústrias.

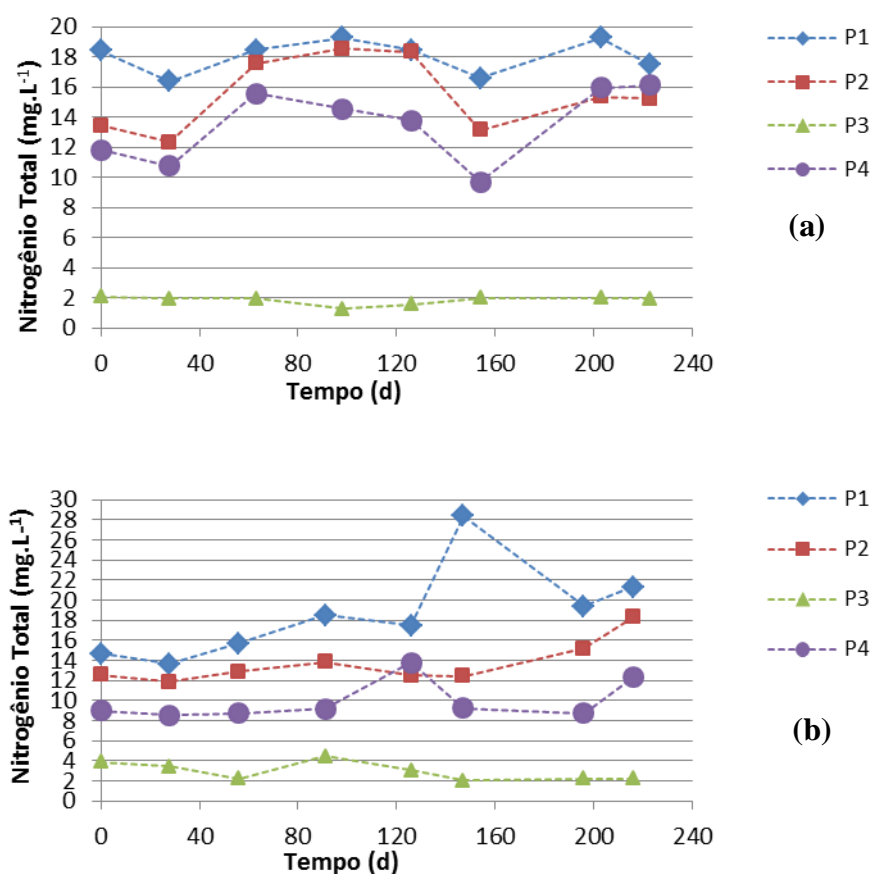


Figura 19 - Variação das concentrações do nitrogênio amoniacal (mg.L⁻¹) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Na Indústria A constatou-se variação do nitrogênio total em (P1) de 16,37 a 19,27 mg.L⁻¹ e em (P2) a variação foi da ordem de 12,35 a 18,55 mg.L⁻¹. Para a Indústria B, as

variações de NT foram da ordem de 13,67 a 28,42 mg.L⁻¹ (P1) e de 13,13 a 18,55 mg.L⁻¹ (P2).

Nos dois casos em estudo, nos pontos (P1) e (P2) (exceto a coleta de maio de 2013, 80 dias, na Indústria A, em (P2) que apresentou OD para (P2) de 4,5 mg.L⁻¹), verificou-se valor abaixo ou muito próximo de 1 mg.L⁻¹. Isto sugere baixa reação da nitrificação RODRIGUES *et al.*(2010). Concentrações de OD dissolvido acima de 1 mg.L⁻¹ são essenciais para que a reação de nitrificação ocorra. Caso contrário o OD torna-se nutriente limitante e a reação torna-se lenta ou pode até cessar (PACHECO, 2004).

Quando observado o nitrogênio total em (P3) e (P4) a montante e a jusante do lançamento da Indústria A, verificou-se variação de 1,39 a 2,97 mg.L⁻¹ a montante e de 9,71 a 15,97 a jusante do lançamento (P4). Na Indústria B, o NT variou (P3) de 2,07 a 4,47 mg.L⁻¹ e em (P4) de 9,21 a 22,6 mg.L⁻¹. Embora na Resolução CONAMA 357 seja permitido lançamento de NT de até 2,0 mg.L⁻¹, os valores encontrados a jusante, quando comparados com os de montante, demonstram a colaboração das duas indústrias no aumento do NT no corpo receptor.

Na Figura 20 (a) e (b) notam-se os resultados das análises efetuadas para o parâmetro fósforo total nas duas indústrias em estudo.

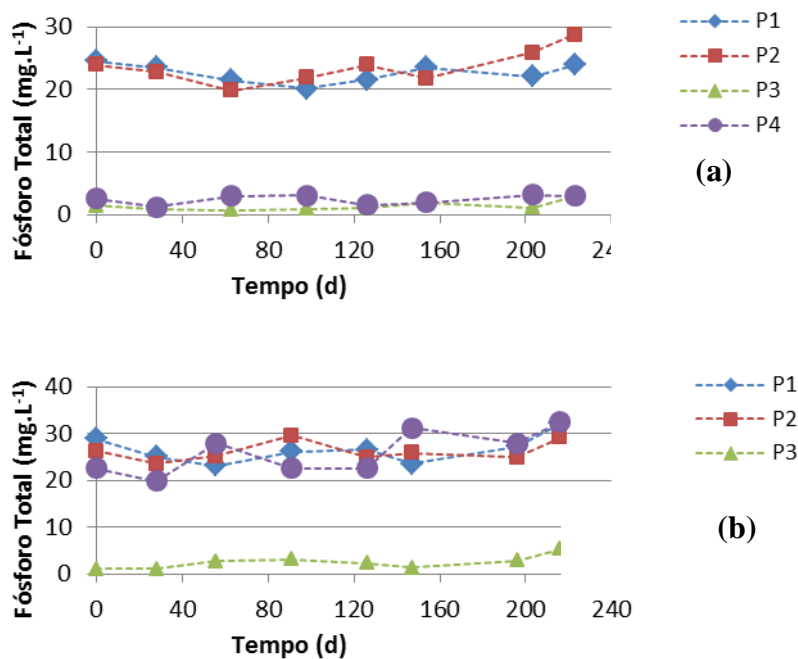
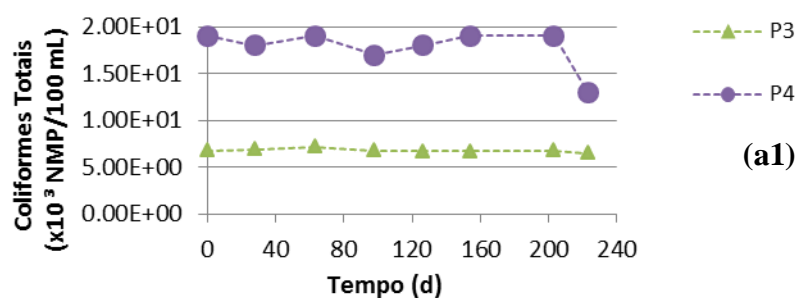
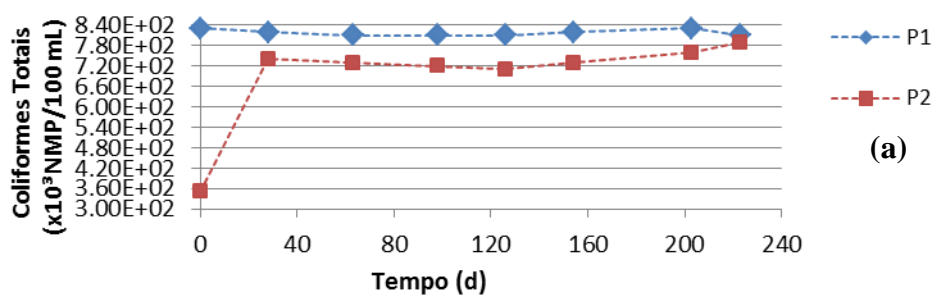


Figura 20 - variação das concentrações do fósforo total (mg.L⁻¹) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a) e B (b) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08/03/2013 para a Indústria A e 15/03/2013 para a Indústria B.

Os resultados encontrados para fósforo total ficaram entre 23,5 a 29,5 mg.L⁻¹ no ponto de lançamento (P2) (Indústria A) de 21,9 e 25,9 mg.L⁻¹ em P2 (Indústria B). Estes valores reforçam Caixeta *et al.* (2002) que encontraram valores entre 15 a 40 mg.L⁻¹. Com esta concentração de fósforo total sendo lançada, constatou-se que na Indústria A, no ponto (P4) a jusante do lançamento, o fósforo está bem acima dos 2,0 mg.L⁻¹ permitidos, ficando entre 19,9 a 31,2 mg.L⁻¹, o mesmo ocorrendo na Indústria B, onde neste mesmo ponto, o fósforo total ficou entre 19,9 a 31,20 mg.L⁻¹.

Portanto as duas indústrias não atendem a legislação vigente. Conforme estabelecido pela Resolução CONAMA 357, o limite da concentração de fosforo em rios de classes II é de 0,030 mg.L⁻¹ em ambientes lênticos e 0,050 mg.L⁻¹ em ambientes intermediários. Chernicharo *et al.* (2001) alertou que estes valores são baixos, o que “pode inclusive ser fruto de algum engano na elaboração da legislação”. E ressalta ainda que “é muito difícil cumprir tal limite e que na maioria dos casos em que não se tem elevada diluição dos efluentes da ETE, mesmo com o uso de tratamento via processos aeróbios convencionais, a não ser que estes sejam projetados especificamente para a remoção de fósforo”, o objetivo do tratamento não é alcançado.

Na Figura 21 (a), (a1), (b) e (b1) observam-se os resultados microbiológicos para o parâmetro coliforme totais das Indústrias A e B.



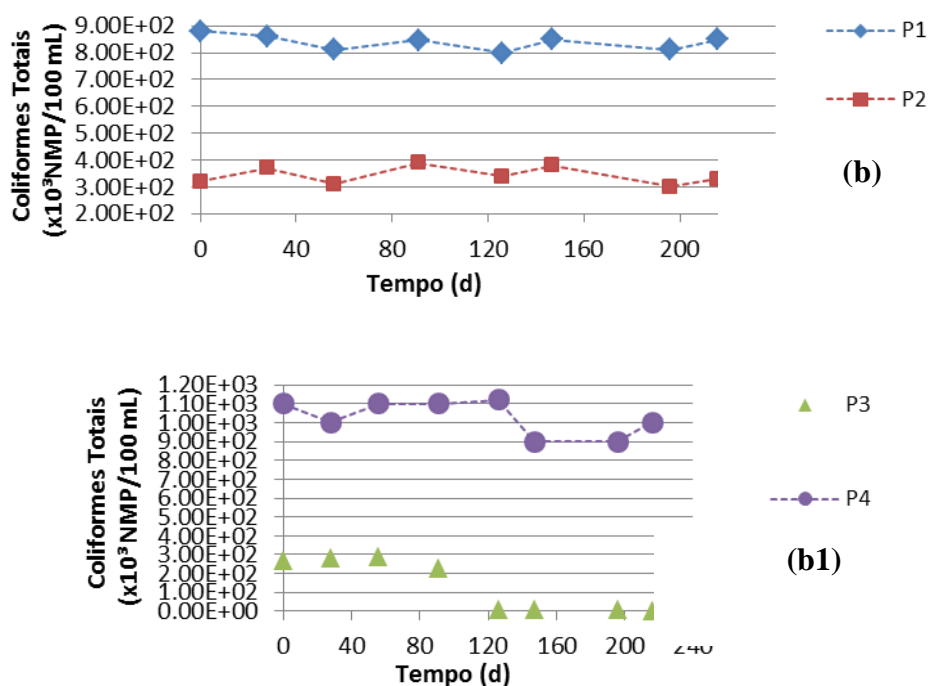


Figura 21 - Variação da concentração dos coliformes fecais (10^3 NMP/100 mL) do efluente e da água nos pontos de amostragem das indústrias A (a), (a1) e B (b), (b1) em função do tempo em dias. Tempo zero é igual ao início das coletas em 08.03/2013(a) e 15.03.2013 (b).

Quando analisados os resultados para coliforme totais nos dois casos em estudo nota-se uma redução no número mais provável (NMP) de coliformes quando o efluente passa pelo sistema de tratamento, porém, o efluente final não atende a resolução CONAMA n° 430 (2011) que é de $<1.1 \times 10^3$ NMP/100ml.

A análise dos resultados indica que, embora na Indústria A exista uma unidade específica para desinfecção, esta única lagoa de maturação não proporciona a qualidade apropriada ao efluente, em termos de coliformes totais. Tal contingência sugere uma falha de projeto, que não contemplou uma ampliação do sistema de tratamento em função do aumento da capacidade de abate do estabelecimento.

A fim de agrupar os pontos amostrados e o período de amostragem dos dados abióticos e inferir sobre as variáveis que mais contribuíram na tendência geral dos dados, foi realizado a análise de componentes principais.

Para a Indústria A (Figura 22) a Componente Principal 1 foi responsável por explicar 71,67% e a Componente Principal 2, por explicar 13,05% da distribuição dos dados. Observa-se que não houve separação clara entre os períodos amostrados, entretanto, as

concentrações de nutrientes e detrito influenciaram diretamente a distribuição dos pontos amostrais, bem como a concentração de oxigênio dissolvido e coliformes totais.

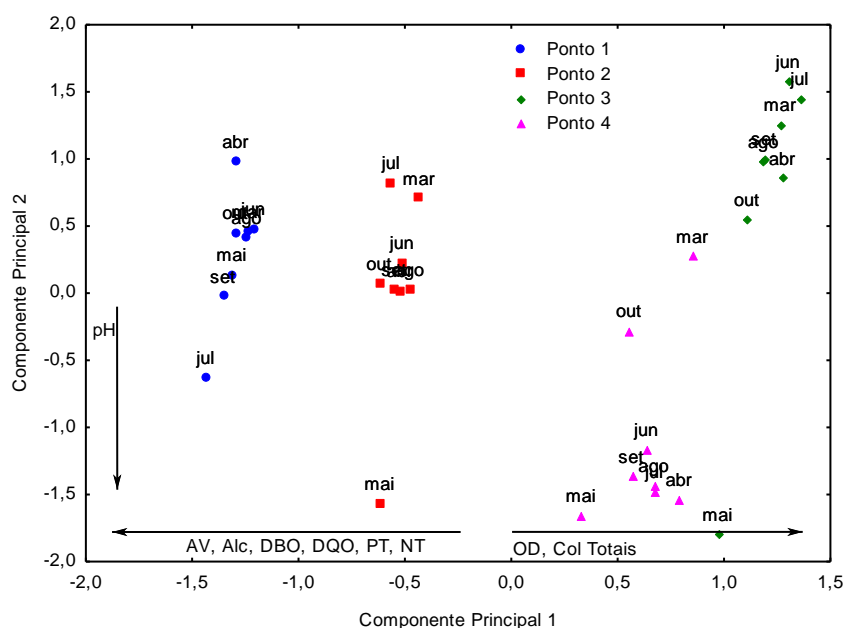


Figura 22 – Análise de componentes principais (ácidos voláteis, alcalinidade, DBO, DQO, fósforo total, nitrogênio total, oxigênio dissolvido e coliformes totais da Indústria A.

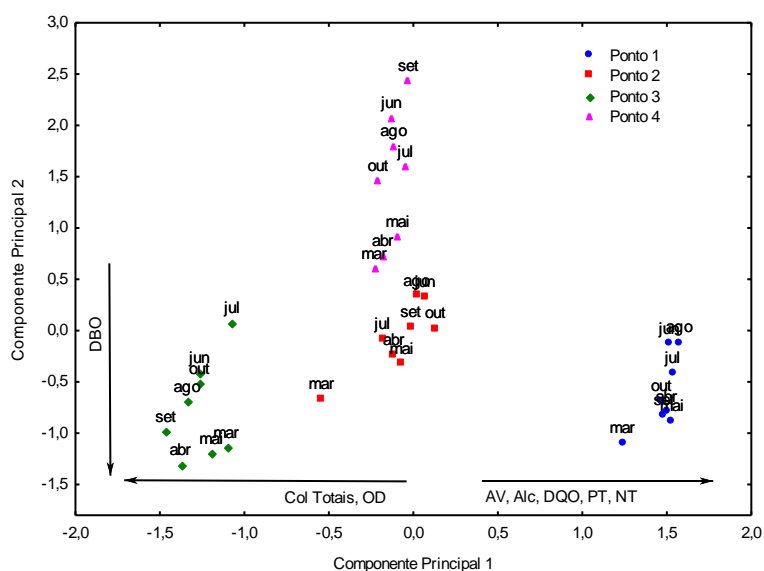


Figura 23 – Análise de componentes principais (ácidos voláteis, alcalinidade, DBO, DQO, fósforo total, nitrogênio total, oxigênio dissolvido e coliformes totais da Indústria B.

Para a Indústria B (Figura 23) A Componente Principal 1, foi responsável por explicar 56,42% e a Componente Principal 2, por explicar 20,7% da distribuição dos dados. Observa-se que não houve uma separação clara entre os períodos amostrados, entretanto, observou-se que a Componente principal 1 separou os pontos amostrais em categorias distintamente agrupadas, sendo que o ponto 1 apresentou maiores valores de ácidos voláteis, alcalinidade, DQO, fósforo total e nitrogênio total, enquanto o ponto 3 apresentou maiores valores de oxigênio dissolvido e coliformes totais. Já a Componente principal 2 indicou que os pontos 1, 2 e 3 apresentaram valores mais elevados de DBO.

4.2 ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS

Nos ensaios com biomarcadores, teste micronúcleo písceo e ensaio cometa em lambaris (*Astyanax sp*), em todas as estações do ano, ocorreu a mortalidade de todos os peixes expostos ao efluente da saída da lagoa anaeróbia (P1), diluído em 50% de água filtrada e na saída do tratamento (P2), diluído com 25% de água filtrada, da Indústria A, totalizando 120 indivíduos, o que representou 40% dos 300 peixes expostos. Na Indústria B a mortalidade foi de apenas 60 peixes, que foram expostos ao efluente diluído em 50%, na saída da lagoa anaeróbia (P1), que representou 20% do total de 300 exemplares.

Restaram, assim, para esta pesquisa 420 peixes, que foram expostos aos efluentes dos pontos de coletas (P3), (P4) e controle negativo (P5) da Indústria A e os pontos (P2), (P3), (P4) e controle negativo (P5) da Indústria B. Todos os exemplares analisados, ao final do bioensaio, não apresentaram qualquer alteração em relação ao peso e comprimento total.

Nas Figuras 24, 25, 26 e 27 apresentam-se os resultados das análises das alterações morfológicas nucleares (AMN) das coletas das estações verão, outono, inverno e primavera das Indústrias A e B, respectivamente.

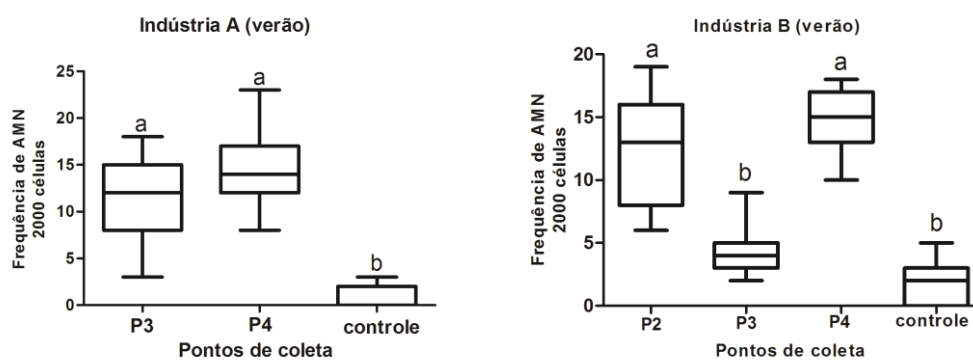


Figura 24 - Frequência do número de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares observadas na estação verão na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

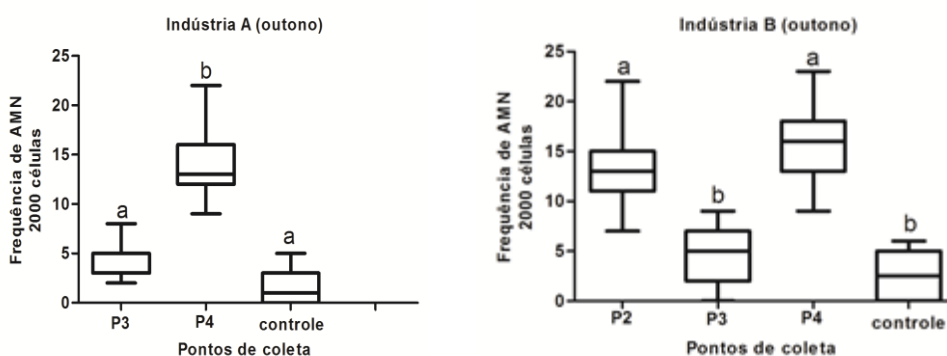


Figura 25 - Frequência do número de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares observadas na estação outono na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

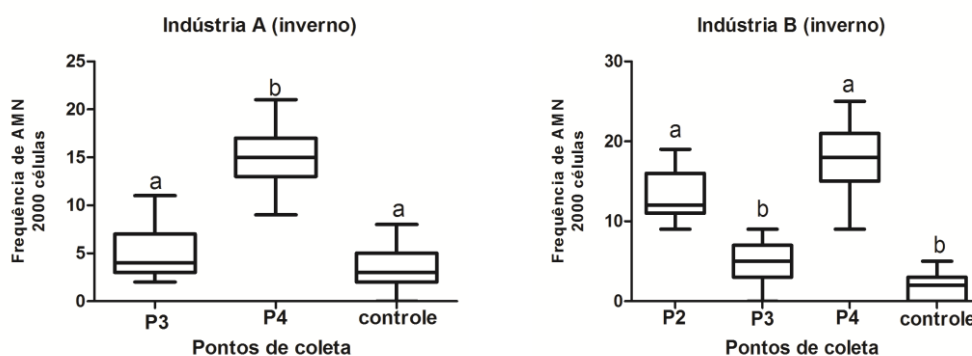


Figura 26 - Frequência do número de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares observadas na estação inverno na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas.

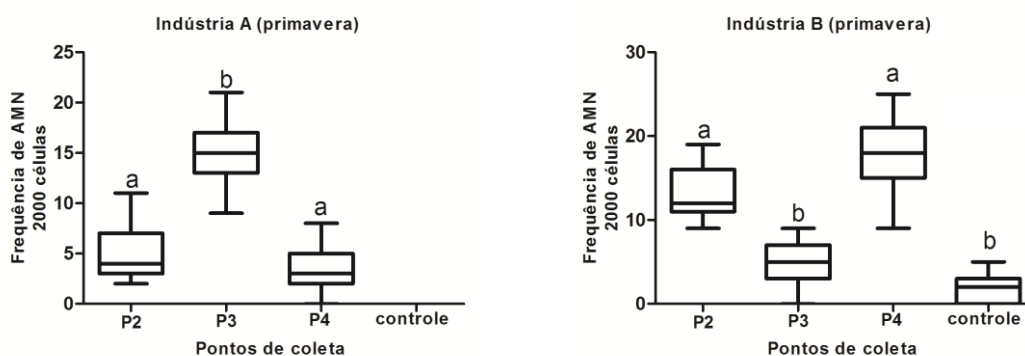


Figura 27 - Frequência do número de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares observadas na estação primavera na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

Ao analisar os resultados do micronúcleo píceo da Indústria A apresentados nas Figuras de 24 a 27, observou-se que após 96 horas de exposição às concentrações sem diluição dos pontos P2 (saída do sistema) e P4 (jusante do lançamento), de todas as estações do ano, houve alterações morfológicas nucleares. Somando estas alterações ao micronúcleo normal, constatou-se que os pontos (P2) e (P4) apresentaram significativa diferença em relação ao grupo controle negativo com $p < 0,0001$. Este resultado reforça Katsumiti (2006), Lemos *et al.* (2005), Benincá (2006), que também encontraram $p < 0,0001$. Benincá (2006) observou maior dano em peixes coletados durante o período de inverno. Já Sekine *et al.* (2012) encontrou $p < 0,05$ com as maiores taxas de alterações morfológicas nucleares encontradas foram na estação verão, à jusante do lançamento.

Para a Indústria B, o resultado observado foi semelhante, ou seja, em todas as estações do ano houve significativa diferença, para o mesmo período de exposição, tendo os pontos de coletas (P2), (P3) e (P4) apresentado correlação estatisticamente significativa em relação ao grupo controle com $p < 0,0001$.

Os resultados encontrados demonstraram que o teste do micronúcleo píceo é um ensaio simples, de fácil aplicabilidade, que detecta mutação no material genético.

Nas Figuras 28, 29, 30 e 31 são apresentados os resultados obtidos para o ensaio cometa de todas as estações do ano.

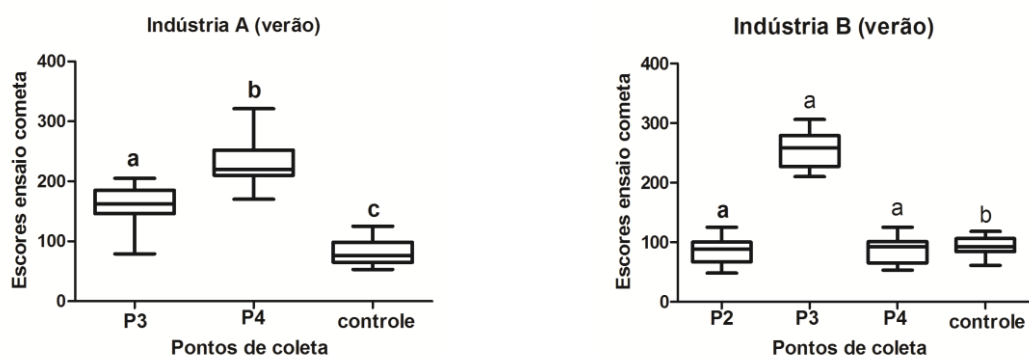


Figura 28 - Escores obtidos do ensaio cometa da estação verão na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

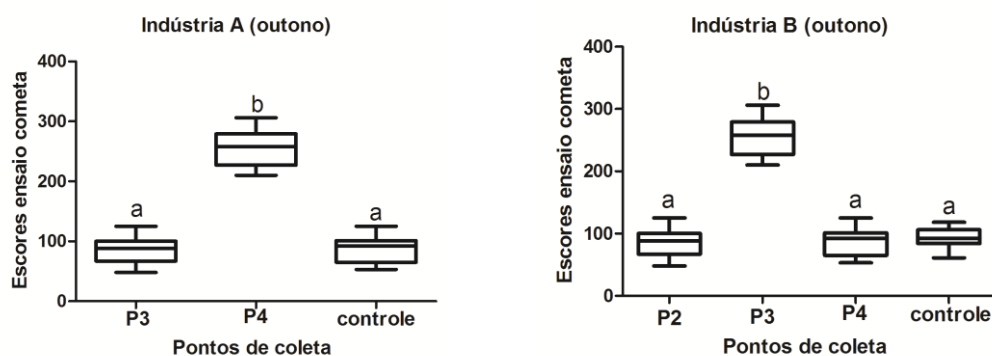


Figura 29 - Escores obtidos do ensaio cometa da estação outono na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

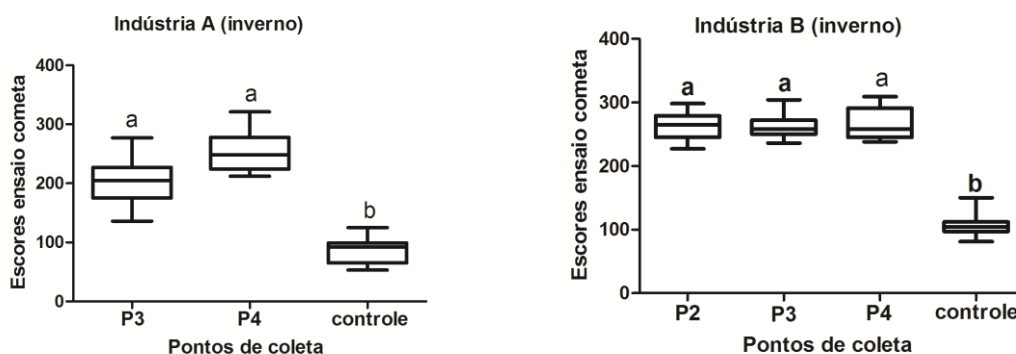


Figura 30 - Escores obtidos do ensaio cometa da estação inverno na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

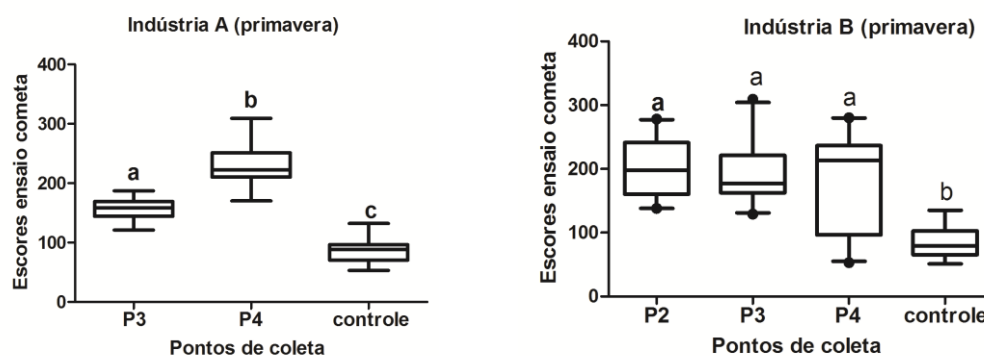


Figura 31 - Escores obtidos do ensaio cometa da estação primavera na Indústria A e B, nos diferentes pontos de coleta, em *Astyanax sp* expostos por 96 horas. Letras iguais indicam falta de diferença estatística significativa e letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$)

Na análise dos resultados do ensaio cometa obtidos para Indústria A (Figuras 28 a 31), os escores obtidos mostraram correlação estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). Foi observado nesta indústria que o ponto (P3) a montante do lançamento apresentou menor dano que o ponto (P4) a jusante, quando comparados ao grupo controle negativo (P5).

Os percentuais encontrados na média dos escores, quando comparados ao grupo controle, a montante e a jusante do lançamento foram de 35,04% e 78,44% na estação verão, de 12,03% e 64,81% na estação outono, de 68,37% e 77,59% para a estação inverno e para a primavera foi de 71,11% e 82,48%, respectivamente.

Na Indústria B, a comparação, de aumento de danos de DNA, dos escores encontrados nos os pontos de coleta (P2), (P3) e (P4) também foram estatisticamente significativos ($p < 0,0001$). O resultado avaliado, entre todos os pontos e datas das coletas mostrou o maior percentual de possível dano na coleta efetuada no verão, que ficou na casa de 83,48% quando também comparado ao ponto (P5 - controle).

Estes resultados reforçam Hartmam (2004) que encontrou correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em um estudo com efluentes industriais.

Benincá (2006) em um monitoramento da qualidade das águas em um estuário em Santa Catarina com *Geophagus brasiliensis* (acará) utilizando tese do micronúcleo e ensaio cometa concluiu que o acúmulo de substâncias clastogênicas ou aneugênicas elevou as frequências de alterações nas células analisadas.

Rivero (2007) utilizando 07 espécies de peixes nativos e exóticos que habitam o Lago Paranoá em Brasília/DF encontrou evidências de dano no DNA com o teste do micronúcleo e cometa. Galvan (2011) encontrou indução de dano do DNA em peixes exposto a todas as concentrações de efluentes de laboratórios químicos.

Os resultados encontrados neste trabalho, nos escores de danos do ensaio cometa, indicaram uma possível ação de agentes genotóxicos, os quais podem estar comprometendo a qualidade da água no trecho analisado do rio (P4) a jusante do lançamento. Estes escores indicaram que o maior percentual encontrado para Indústria A foi na primavera e para a Indústria B foi na estação verão.

Isto sugere que exposições agudas a essas águas podem estar afetando a biota presente nesse ecossistema, bem como a saúde da população, já que o ponto (P4) a jusante do lançamento, da Indústria A faz parte do Rio Miringuava e no caso da Indústria B o ponto (P4) é afluente do Rio Pequeno, sendo importante fonte de abastecimento de água (SANEPAR, 2013).

Quando comparados os dados obtidos nas análises, durante o período amostrado, entre o teste do micronúcleo píceo e o ensaio cometa observou-se que o ensaio cometa é mais sensível para indicar possíveis danos ao DNA reforçando Bolognesi *et al.* (2006).

Neste trabalho não foi feita a correlação entre a toxicidade para *Astyanax sp* e os valores das concentrações encontradas nos parâmetros físicos, químicos e biológicos identificados. No entanto, os resultados encontrados nas análises, através do teste do micronúcleo píceo e o ensaio cometa, reforçam a suspeita de que os efluentes das duas indústrias contribuem para contaminar o meio aquático.

5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES

No que se refere aos efeitos genotóxicos, o presente estudo confirmou a eficiência da utilização de biomarcadores teste do micronúcleo písceo e ensaio cometa com eritrócitos de peixes como uma ferramenta bastante sensível para a detecção de genotoxicidade no ecossistema aquático em estudo. Constatou-se que o método de avaliação do micronúcleo písceo apresentou sensibilidade inferior ao ensaio cometa.

Com base nos resultados das análises física, química e biológica, dos componentes principais e dos biomarcadores: teste do micronúcleo písceo e ensaio cometa foi possível concluir que ambas as indústrias através do lançamento dos seus efluentes líquidos contribuíram, durante o período deste estudo, para gerar efeitos genotóxicos nos animais submetidos aos bioensaios.

Para uma avaliação mais realista do risco que efluentes da indústria alimentícia podem causar aos ecossistemas, sugere-se a inclusão do teste do micronúcleo písceo e ensaio cometa na legislação brasileira como uma ferramenta de avaliação ecotoxicológica em programas de monitoramento ambiental.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS- ABNT. Disponível em: <<http://www.abnt.org.br/>> . Acesso em: 05 jun. 2013.

ADAMS, M. **Biological Indicators of Aquatic Ecosystem stress**. Maryland: American Fisheries Society Bethesda, USA, 2002.

AL-SABTI, K; METCALFE, C. D.. **Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Mutagenesis**, U.s.a, v. 34, n. 2-3, p.125 a 137, 1995.

AMADO, L. L., ROBALDO, R. B., GERACITANO, L., MONSERRAT, J. M., BIANCHINI, A. **Biomarkers of exposure and effect in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil)**. Marine Pollution Bulletin, v. 52, p. 207 a 213, 2006.

ANDRADE, V.M. FREITAS T.R.O; SILVA, J. Comet assay using mullet (*Mugil sp.*) and seacatfish (*Netuma sp.*) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatics environmente. **Mutat. Res.** 560, p. 57 a 67, 2004.

ARENZON A.; PEREIRA NETO T.; GERBER W.; **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Realização FIERGS/CIERGS. Coordenação Conselho de Meio ambiente. Porto Alegre; SENAI de Artes Gráficas. 40p. 2011.

ARRUDA, V. C. M.. **Tratamento Anaeróbio e Gestão de Efluentes Gerados em Matadouros de Bovinos**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Pernambuco, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Mario Takayuki Kato. 2004. Disponível em: <<http://www.liber.ufpe.br/teses/arquivo/20041111184737.pd>> Acesso em 10. Jun. 2013

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES – ABIEC. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/>> Acesso em: 09 jun. 2013.

AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in european minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. **Mutat. Res.** 467, p. 177 a 186, 2003.

BANNI, M.; BOURAoui, Z.; GHEDIRA, J.; CLERANDEAU, C.; GUERBEIJ.; NARBONNE, J. F.; BOUSSETTA, H. **Acute effects of benzo[a]pyrene on liver phase I and II enzymes, and DNA damage on sea bream *Sparus aurata***. Fish Physiology and Biochemistry, v.35, p.293, 2009.

BARBOSA F. A.; BOTARI A.; FREIRE B. F.. Análise do tratamento de água residuária sintética em reator UASB seguido de filtro preenchido com solo natural. **Revista Tecnológica**, v.18, p. 53-57. 2009. Disponível em: <<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevTecnol/article/download/.../6001>> Acesso em 05 jan.2013.

BARRETO, R. E.; GONTIJO, A. M. M. C.; ALVES-DELIMA, R.O.; RAYMUNDI, V. C.; PINHAL, D.; REYES, V.A.V.; VOLPATO, G. L.; SALVADORI, D. M. F. MS222 does **not**

induce primary DNA damage in fish. *Aquaculture International*, v. 15, p. 163 a 168, 2007.

BARSIENE, J. et al. **Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipeda-Būtinge area (Baltic Sea).** *Marine Pollution Bulletin*. v.53, p.422 a 436, 2006.

BÉKAERT, C.; RAST, C.; FERRIER, V.; BISPO, A.; JOURDAIN, M. J.; VASSEUR, P. **Use of in vitro (Ames and Mutatox tests) and in vivo (Amphibian Micronucleus test) assays to asses the genotoxicity of leachates from a contaminated soil.** *Organic Geochemistry*, Oxford, v. 30, p. 953 a 962, 1999.

BELPAEME, K., DELDERE, K., ZHU, L. & KIRSCH-VOLDERS, M., 1996, **Cytogenetic studies of PCB77 on brown trout (*Salmo trutta fario*) using micronucleus test and the alkaline comet assay.** *Mutagenesis*, 11: 485 a 492, 1996.

BENINCÁ, C. **Biomonitoramento das lagoas estuarinas do camacho – Jaguaruna (SC) e Santa Marta - laguna (SC); utilizando *geophagus brasiliensis* (cichlidae.) 2006. 69 P.** Dissertação (Mestrado em genética), Departamento de Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Pr. (2006). Disponível em: <<http://www.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/.../bonecofinal.pdf?...1>> Acesso em 11 jan. 2013.

BETINELI E. **Avaliação da estação de tratamento de efluentes (ETE) de uma empresa de processamento de subprodutos da indústria de carnes.** 2011. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2011.

Disponível em: <<http://www.usuarios.upf.br/~engeamb/TCCs/2011-2/Ezequiel%20Betineli.pdf>>

Acesso em 10 abr. 2013.

BIOESTAT - Instituto Mamirauá Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas/bioestat-versao-53>> Acesso em 10 abr. 2013.

BOLOGNESI, C., *et al.* Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants. *Science of the Total Environment*, v. 333, p. 127 a 136, 2006.

BOMBAIL, V.; GORDON, E.; BATTY, J. Application of the comet and micronucleus assay to butterflyfish (*Pholis gunnelus*) erythrocytes from the Firth of Forth, **Scotland.** *Chemosp.* 44, p. 283 a 392, 2001.

BRAILE, P.M.; CAVALCANTI, J.E.W.A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais.** Sao Paulo, CETESB, 764 p. 1993.

BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. RIISPOA - **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.** Diário Oficial da União Decreto nº 30.691, de 29/03/52, Brasília, 1952.

_____. **Instrução Normativa nº 15**. Publicada no Diário Oficial da União Nº 211, Seção 1, p.78-82. 2003.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº. 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 18 mar. 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 31 jan. 2013.

_____. Conselho Nacional do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº. 430, de 13 de maio de 2011. **Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 16 maio 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 31 jan. 2013.

CAIXETA C. E. T.; CAMMAROTA, M. C.; XAVIER, A. M. F. **Avaliação de nova proposta de separador trifásico em reatores UASB no tratamento de efluentes de frigoríficos**. In: INTERAMERICAN CONGRESS OF CHEMICAL ENGINEERING, 19.,2000. Águas de São Pedro-SP. **Anais...** Águas de São Pedro-SP, 2000. 172p.

CAJARAVILLE, M P et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of The Total Environment**, Espanha, v. 2-3, n. 247, p.295 a 311, 2000.

CARRASCO, K.R.; TILBURY, K. L.; MAYERS, M. S.; Assessment os the piscine micronuclei test in situ biological indicator of chemical contaminats effects. **Canad. Journ. of Fish. and Aquatic Scienc.** 47, p. 2123 a 2136, 1990.

CARTER, K. B. Controlling Toxicity: An Integrated Strategy. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 58, p. 6 a 11, 1986.

CASSIDY D.P.; BELIA E. Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. **Water Research**, Vol. 39, Nº 19, pp. 4817 a 4823, 2005.

CAVALCANTI, P. F.F. , **Pós-Tratamento de Efluentes Anaeróbios em Lagoas de Polimento**. In: CHERNICHARO, C.A.L. (Coordenador). Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios. Vol. 2, Cap. 3, PROSAB, 1º Edição, Belo Horizonte, p.105 a 169, 2001.

CETESB – Cia. de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Nota Técnica sobre tecnologia de controle – Abate de bovinos** – NT-12. São Paulo, 19 p. 1986.

_____. **Avaliação de desempenho de lagoas de estabilização. Série Mananciais**. São Paulo, 30 p. 1990.

_____. **Caracterização, Reaproveitamento e Tratamento de Resíduos de Frigoríficos, Abatedouros e Graxarias.** São Paulo 1993.

_____. **Cacterização, Reaproveitamento e Tratamento de Resíduos de Frigoríficos, Abatedouros e Graxarias.** São Paulo 2000, 2002 e 2008.

CLARK, G. M. **The genetic basis of developmental stability. I. Relationship between stability, heterozygosity and genomic coadaptation.** *Genetica*, v. 89, p. 15 a 23, 1993.

CHERNICHARO C.A.; HAANDEL A.C; FORESTI E. CYBIS L. **Aplicabilidade da tecnologia anaeróbia para o tratamento de esgotos domésticos** Vol. 3, Cap. 3, PROSAB, 1º Edição, Belo Horizonte, p.103 a 168, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex Alimentarius Commission: Codex Committee on Food Hygiene. **Discussion Paper on Proposed Draft Guidelines for the Hygienic Reuse of Processing Water in Food Plants.** Joint FAO/WHO Food Standards Programme, 32nd Session, Washington, DC, USA, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex Alimentarius Commission: Codex Committee on Food Hygiene. **Proposed Draft Guidelines for the Hygienic Reuse of Processing Water in Food Plants.** Joint FAO/WHO Food Standards Programme, 34th Session, Bangkok, Thailand, 2011.

Conselho Estadual do Meio Ambiente. CONSEMA. Resolução nº. 129, de 24 de novembro de 2006. Dispõe sobre a definição de critérios e padrões de emissão para toxicidade de efluentes líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul. Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 07 dez. 2006. Disponível em: <http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/smam/usu_doc/resolucao_consema_n129_06.p df> . Acesso em: 11 fev. 2013.

_____. CONSEMA. Resolução nº. 251, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre a prorrogação de prazo para o cumprimento do Art. 9º da Resolução CONSEMA 129/2006 que define Critérios e Padrões de Emissão para Toxicidade de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul. Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 24 dez. 2010. Disponível em: www.sema.rs.gov.br Acesso em: 11 fev. 2013.

Conselho Nacional da Pecuária de Corte-CNPC. Disponível em: <<http://www.cnpc.org.br/atividades.php?ID=2254>> . Acesso em 8 jun. 2013.

CORDOVA H. S. Victor. **Avaliação de genotoxicidade em *Mus musculus* (Linnaeus) tratados com *Brassica O.L. var.italica* (Plenck) cultivada em área de exploração de carvão.** 2013. 135 f. Trabalho conclusão de curso de Ciências Biológicas da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Criciúma.SC. Disponível em [www](http://www.share.pdfonline.com/.../TCC%20ultimate.htm). <<http://www.share.pdfonline.com/.../TCC%20ultimate.htm>> Acesso em: 10 agosto de 2013.

CUNHA, C. L. N.; FERREIRA, A. P. **Modelagem matemática para avaliação dos efeitos dos despejos orgânicos nas condições sanitárias de águas ambientais.** Caderno de Saúde Pública. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-11X2006000800020&script..>> Acesso em 15 nov. 2013.

DOMINGUES, D.F.; BERTOLETTI, E. **Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos**. In: Zagatto, P.A. & Bertoletti, E. (eds), **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos. RIMA. p. 153 a 184, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Disponível em: <<http://www.embrapapesquisa.org.br>>. Acesso em 07 jun. 2013.

ERGENE, S.; CAVAS, T.; ÇELIK, A.; KÖLELI, N.; AYMAK, C. Evaluation of river water genotoxicity using the piscine micronucleus test. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 48, Issue 6, p. 421 a 429, 2007a.

ERGENE, S.; CAVAS, T.; ÇELIK, A.; KÖLELI, N.; KAYA, F.; KARAHAN, A. Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Goksu Delta (Turkey): genotoxic damage in relation to water pollution. **Ecotoxicology**, v. 16, p. 385 a 391, 2007b.

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

ESPINOZA, M. W.; PAZ, A. M. A. dos S.; RIBAS, M. L. O.; SANGOI, R.F.; BURSZTEJN, S.. Índices para o Cálculo Simplificado de Cargas Orgânicas e Inorgânicas Presentes em Efluentes Industriais. **XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre-RS, AIDIS/ABES**. 1998. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/i-082.pdf>>. Acesso em 11 Set. 2012.

ESTEVEZ, F., A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. edição. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 1988

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO – FIESP. Disponível em: <<http://www.fiesp.org.br>> . Acesso em: 05 jan 2013.

FENECH, M. C., J. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient in human lymphocytes – evidence for breakage – fusion – bridge cycles in the cytokinesis – block micronucleus assay. **Mutat. Res.** 504 p. 131 a 136, 2000.

FERNANDES S. G. José; HAANDEL V. A.; CAVALCANTI F.F. P.; COURA R. L.. Utilização da respirometria no controle operacional de sistemas aeróbios de tratamento de águas residuárias – a Experiencia da CETREL. Artigo técnico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. vol.6 n°3 jul/set 2001 e n°4 out/dez 2001. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/abes/v6n3/v6n34a03.pdf>> Acesso em: 13 fev. 2013.

FEPAM Fundação Estadual de Proteção Ambiental / PRÓ-GUAIBA, 1997. **Diagnóstico da poluição gerada pelas indústrias localizadas na área da bacia hidrográfica do Guaíba**. Porto Alegre. Disponível em: <<http://www.fepam.org.br>> .Acesso em 25 out.2012.

FRACÁCIO, R.; VERANI, N. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ROCHA, O.; SÁ, O. R.; ANDRADE, C. A. Alteration on growth and gill morphology of Danio rerio (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediment. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, p. 685 a 695, 2003.

FRENZILLI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutation Research**, v. 681, p. 80 a 92, 2009.

FRICK J. M. **Estudo do monitoramento de efluentes líquidos industriais de frigoríficos do Rio Grande do Sul**. 2011. 63 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Engenharia. Departamento de engenharia química da Universidade Federal do Rio G. do Sul. 2011. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br>> Acesso em: 05 jan. 2013.

FROEHNER, S; e MARTINS, R.; F. Avaliação da composição química de sedimentos do Rio Barigui na Região Metropolitana de Curitiba. **Quim. Nova**, Vol. 31, no. 8, 2020 a 2026. 2008.

GALVAN, L. G. **Avaliação genotóxica de efluentes químicos de laboratórios de instituição de ensino e pesquisa utilizando como bioindicador o peixe *Astyanax altiparanae* (characidae)**. 2011. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. (2011). Disponível em: <<http://www.dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/handle/1884/25590>> . Acesso em: 10 jan. 2013.

GANDHI G. **Tratamento e Controle de Efluentes Industriais Engº e Profº. Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente – UERJ** (2005). Disponível em: <<http://www.ggiordano2004xa.yimg.com>>. Acesso em: 10 out. 2012.

GODOY, M.P. **Peixes do Brasil. Subordem characidade**. Edição Franciscana. São Paulo, v. 4, p. 847. 1975.

GONZALEZ, M. A. Estratégias e alternativas para a redução da toxicidade em processos. Palestra apresentada no **IV Seminário sobre Tecnologias Limpas e VI Fórum Internacional de Produção mais Limpa**. Porto Alegre/RS, 2011.

GRISOLIA, C. K.; STARLING, F. L. R. M. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. **Mutat. Res.**, 491, p. 39 a 44, 2001.

GONTIJO, A. M. M. C.; TICE, R. **Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas**. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. (Org.). *Mutagênese Ambiental*. Canoas: Ulbra, 2003. p. 173 a 200. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722012000200014&script. Acesso em 01 mar. 2013.

HARSHBARGER, J. C.; CLARK, J., B. Epizootiology of neoplasms in bony fish of North-America. **Science of the Total Environment, Amsterdam**, v. 94, n. 1-2, p. 1 a 32, 1990.

HARTMANN, C.C. **Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas**. 2004. 85 f. Dissertação (mestrado em ecologia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: www.ecologia.ufrgs.br/ecotox/.../Cintia%20Hartmann%202004.pdf Acesso em 20.11.2011.

HAO, X. D.; van LOOSDRECHT, M. C. M. A proposed sustainable BNR plant with the emphasis on recovery of COD and phosphate. **Water Science and Technology**, v. 48, p. 77a 85, 2003.

HEDDLE, J.A. A rapid in vivo test for chromosome damage. **Mutation Research**, v. 18, p.187-192, 1991.

HODGSON, E. **A Textbook of Modern Toxicology**. 3ª edição, John Wiley & Sons. New Jersey, 2004, cap.1

HOFFMAN, R. N.; RAAT, W. K. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) en the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pigmaea* by ethil methanesulphonate. **Mutat. Research**. 104, p. 147 a 152, 1982.

IMOLENE C.M.; BEZERRA L.P.; BARBEDO A.G. A.; NOBUVOSHI I.; CASTRO R.A.; OLIVEIRA K. R. F.; **Efluentes agroindustriais em Mato Grosso do Sul – características**. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Depto.de Hidráulica e Transportes (DHT). 1999 a 2001. Disponível em: <<http://www.scribd.com/.../efluentes-agroindustriais-em-mato-gr>..> . Acesso em 15 jan. 2013.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. IAP. Manual de avaliações de impactos ambientais. **Importância dos parâmetros ecotoxicológicos em estudos ambientais**. 3 edição. Suplemento 3. Curitiba (SEMA/IAP/GTZ). 1999. Disponível em: www.iap.gov.br Acesso em: 26 fev. 2013.

_____. Portaria nº 019, de 10 de fevereiro de 2006. **Aprova e determina o cumprimento da Instrução Normativa DIRAM nº002/2006**, que estabelece o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras no Paraná. Diário Oficial do Estado Paraná, Curitiba, 16 fev. 2006, p. 22. Disponível em: www.iap.gov.pr Acesso em: 26 fev. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>> Acesso em: 08 jun 2013.

INGENITO , L. F. S.; DUBOC , L. F.; ABILHOA , V. Contribuição ao conhecimento da ictiofauna da bacia do alto Rio Iguaçu, Paraná, Brasil. **Arq. ciên. vet. UNIPAR**, 7(1): p.23 a 36. 2004.

IPPC *Integrated Pollution Prevention And Control. Reference document ond best Available Techniques in the Slaughterhouses and Animal by-products Industries*. Sevilha, EIPPCB, mai.(2005) Site corporativo. Disponível em: <<http://eippcb.jrc.es/pages/FActivities.htm>>. Acesso em 05.jan.2013.

KAMMANN, U.; RIGGERS, J.C.; THEOBALD, N.; STEINHART, H. Genotoxic potential of marine sediments from the north sea. **Mutation Research**. v. 467 p.161 a 168, 2001.

KATSUMITI K. A. F. **Uso de biomarcadores de contaminação ambiental na avaliação do impacto do vazamento de óleo derivado de petróleo em ecossistemas de água doce**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2006. Disponível em:

<<http://www.dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/.../AlbertoKatsumiti.pdf?>> Acesso em: 15. Jan. 2013.

KENDALL, R.J.. **Casarett and Doull's Toxixology** 6ª edição, Macgraw-Hill. New York, 2001. Cap.29.

KLOBUCAR, G.I.V.; PAVLICA, M.; ERBEN, R.; PAPES, D. Application of the micronucleus and comet assays to mussel *Dreissena polymorpha* haemocytes for genotoxicity monitoring of freshwater environments. **Aquat. Toxicol**, v. 64, p. 15 a 23, 2003.

KRIEGER, E. I. F. **Avaliação do consumo de água, racionalização e reúso do efluente líquido de um frigorífico de suínos na busca da sustentabilidade socioambiental da empresa**. 2007. 129 f. Tese (Doutorado em Biociências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br>> Acesso em: 27. Abr. 2013.

LAITANO, K. dos S.; MATIAS, W. G. Testes de Toxicidade com *Daphnia magna*: Uma Ferramenta para Avaliação de um Reator Experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, p. 43 a 47, 2006.

LEITE, V. D.; ATHAYDE J., G. B.; SOUSA, J. T.; LOPES, W. S.; PRASAD, S.; SILVA, S. A. Tratamento de águas residuárias em lagoas de estabilização para aplicação na fertirrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.71 a 75, 2005.

LI Y.; GALLWITZ D.; PENG R. **Structure-based functional analysis reveals a role for the SM protein Sly1p in retrograde transport to the endoplasmic reticulum**. **Max Planck Institute for biophysical chemistry, department of molecular genetics**, Molecular biology of the cell vol 16, 3951 a 3962, 2005. - Gottingen, Germany. Disponível em: www3.mpibpc.mpg.de/groups/gallwitz/rggallwi.htm Acesso em 03 mar. 2013.

LIMA, P. L.; BENASSI, J. C.; PEDROSA, R. C.; DAL MAGRO, J.; OLIVEIRA, T. B.; WILHELM FILHO, D. *Time-course variations of DNA Damage and Biomarkers of Oxidative Stress in Tilapia (Oreochromis niloticus) Exposed to Effluents from a Swine Industry*. **Archives of Environmental and Contaminants and Toxicologie**, Vol.50, p.23 a 30, 2006.

LIMA, P. L.; HAANDEL V. A.; KIPERSTOK A.; FERNANDES G. J.. **Respirometria aplicada ao tratamento biológico de efluentes com poluentes inibidores da nitrificação. Trabalho de inovação tecnológica. I Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental – I COBESA**. Salvador. Bahia – 11 a 16 de julho de 2010. Disponível em: <<http://www.acquacon.com.br/cobesa/apresentacoes/pap/pap001696.pdf>> Acesso em 13 fev. 2013.

LUIZ, D. B. de. **Gerenciamento Hídrico em Frigoríficos**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. Disponível em: www2.enq.ufsc.br/teses/ml174.pd Acesso em: 15.03.2013.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de sistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 355-381, jul. 2008. Disponível em:

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/fichero_articulo?codigo=2882847&orden=0>

Acesso em: 11 fev. 2013.

MANJUNATH, N. T., MEHROTRA, I., MATHUR, R. P. *Treatment of wastewater from slaughterhouse by DAF-UASB system*. **Water Resource**, 1999. n. 6, p. 1930 a 1936.

MASSÉ, L., MASSÉ, D.I. *Effect of Soluble Organic, Particulate Organic, and Hydraulic shock Loads on Anaerobic Sequencing Batch Reactors Treating Slaughterhouse Wastewater at 20 °C*. **Process Biochemistry**. Vol.40, p.1225 a 1232, 2005.

MATSUMOTO, S. T. **Estudos sobre a influência de efluentes potencialmente genotóxicos, derivados de curtume, na contaminação de recursos hídricos da região de Franca/SP**. 2004. 216 f. Tese (Doutorado em Genética), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. SP, 2004. Disponível em:

<http://www.prope.unesp.br/xxiii_cic/ver_resumo.php?area=100063...32..> Acesso em 05 jan. 2013

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

MEES, J. B. **Revista Eng^a Agrícola vol.29 nº3 Jaboticabal / SP.July / Sept. , ISSN 0100-6916. 2009.**

METCALF & EDDY – Inc. **Wastewater Reclamation and Reuse. In: Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse**. New York, Mc Graw Hill, Inc. Third Edition, p. 1137 a 1191. 1991.

METCALF & EDDY – **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4^a edição, Boston: Mc Graw Hill, 1.819 p. 2003.

MÍDIO, A. MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo:Varela, 2000, 295p.

MIERZWA, J.C., HESPANHOL, I. **Água na Indústria: Uso racional e Reúso**. São Paulo: **Oficina de Textos**. 2005. 143p.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa conjunta COPAM/CERH-MG nº 01, de 05 de maio de 2008. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, Poder Executivo, Belo Horizonte, 13 maio 2008. Retificação em 20 mai. 2008. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=8151>> . Acesso em: 11 fev. 2013.

MINISSI, S.; CICCOTTI, E.; RIZZONI, M. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus lebejus* (Teleostei, Pisces) from two natural environments: a bioassay for the in situ detection of mutagens in freshwater. **Mutation Research**, v. 367, p.245-251, 1996.

MITCHELMORE, C. L.; K.CHIPMAN, J.. DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. **Mutation Research, Edgbaston U.k.**, v. 339, n. 2, p.135-147, 01 mar. 1998.

MORAIS T. C. **Concentração de metais pesados em peixes teleósteos do Rio Piracicaba, Minas Gerais**, Brasil. 2009. Dissertação (Mestrado em Biologia animal). Universidade federal de Viçosa. Viçosa. MG. 2009. Disponível em: <http://www.tede.ufv.br/teedoesimplificado/tde_busca/processaArquivo.php?>. Acesso em: 21 fev. 2013.

MORON, S. E.; POLEZ, V. L. P.; ARTONI, R. F.; RIBAS, J. L. C.; TAKAHASHI, H. K. **Estudo de Alterações na concentração dos íons plasmáticos e da indução de micronúcleos em Piaractus mesopotamicus exposto ao herbicida Atrazina**. Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology., v. 1, p. 27 a 30, 2006.

MORALES M. M. **Avaliação dos resíduos sólidos e líquidos num sistema de abate de bovinos**. 2006 106 f. Mestrado Agronomia. UNESP - Botucatu SP. 2006. Disponível em: <<http://www.cdebotucatu2006pg.fca.unesp.br>> . Acesso em 28. Out. 2013

NAIME, R.; GARCIA, A. C. Utilização de enraizadas no tratamento de efluentes agroindustriais. **Estudos Tecnológicos**, v.1, p.9 a 20, 2005.

NASCIMENTO, A.A.; PEREIRA, S.A.; LEITE, M.B. **Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição**. In: Zagatto, P.A.;Bertoletti. **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos RiMA, 2006.p.413-431.

NICOLELLA, C.; V. LOOSDRECHT M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. **Journal of biotechnology**, V.80 p. 1-33, 2002

NOMURA, H. Alimentação de três espécies de peixes do gênero *Astyanax*. Baird & Girard, 1854 (Osteichthyes, Characidae) do rio Mogi-Guaçu - SP. **Rev. Brasil. Biol**, São Paulo, v. 35, no. 4, p. 595-614, 1975

NUNES, J. A. **Tratamento Físico-Químico de Águas Residuárias Industriais**. Gráfica Editorial J Andrade. 4ª edição - Aracaju - SE, 2004.

ODJADJARE, E.; OKOH, A. Physicochemical quality of an urban municipal wastewater effluent and its impact on the receiving environment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.170, p.383-394, 2010.

OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P.; DURAND, R. E. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the “comet” assay. **Radiation Research**, v. 122, p. 86-94, 1990.

OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P. The Comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. **Nature Protocols**, v.1, p. 23-29, 2006.

OLIVEIRA R., C.A.; VOLLAIRE, Y.; SANCHEZ-CHARDI, A.; ROCHE, H. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. **Aquatic Toxicology**, v. 74, p. 53 – 69, 2005.

ONU – Organização das Nações Unidas – **Relatório de Desenvolvimento Humano**, (2006)

PACHECO, J. W. **Guia Técnico Ambiental de Graxaria**. São Paulo (SP) CETESB, 76 p., 2006.

PACHECO, J. W. **Guia Técnico Ambiental de Frigoríficos - Industrialização de Carnes (bovina e suína)**. São Paulo, CETESB, 85 p., 2006.

PACHECO, J. W.; YAMANAKA, T. H.. **Guia Técnico Ambiental de Abates (bovino e suíno)**. São Paulo, CETESB, 98 p., 2006.

PACHECO, J. W. Tratamento dos efluentes de um frigorífico por sistema australiano de lagoas de estabilização. *Disc. Scientia. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas*, v.5, p.67 a 85, 2005.

PARANÁ. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Conselho Estadual do Meio Ambiente. CEMA. Resolução 081/2010. **Dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o Controle de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais no Estado do Paraná**. Diário Oficial do Estado do Paraná, Curitiba, 19 out. 2010. Disponível em: <http://www.cema.pr.gov.br/arquivos/File/Resolucao_81_ecotoxicidade.pdf> Acesso em: 11 fev. 2013.

PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M.; MONTERANI, F. Effects of pH, acidity and alkalinity on the microbiota activity of na anaerobic sludge blanket reactor (UASB) **Revista Ambiente e Água v.4 n.3 p. 157 a 168, 2011.**

PARSONS, P. A. **Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress**. *Heredity*, v. 68, p. 361 a 364, 1992.

PAWLOWSKY, U., Reaproveitamento e Tratamento de Resíduos Industriais, **Apostila da Disciplina de Reaproveitamento e Tratamento de Resíduos Industriais - 1º versão**, Curitiba: PPGREHA/UFPR, 2004.

PETERLINI, de C. H.. Diagnóstico e proposta de minimização da geração de resíduos em frigorífico industrial. **III Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental – Goiania/GO** de 19 a 22/11/2012. Disponível em: <<http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2012/II-006.pdf>> Acesso em 10 abr. 2013.

PHILIPPI A. JR **Saneamento, Saúde e Ambiente – Fundamentos para um desenvolvimento sustentável**, Coleção Ambiental USP. 2005.

POLARD, T.; JEAN, S.; MERLINA, G.; LAPLANCHE, C.; PINELLI, E.; GAUTHIER, L. Giemsa versus acridine orange staining in the fish micronucleus assay and validation for use

in water quality monitoring, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 144 a 149, 2011.

QUAGLIA, L. J. C.; QUADROS, R. A. Q. Caracterização da toxicidade aguda dos efluentes setoriais e final da Bahia Sul Celulose. In: **Anais Congresso anual de celulose de papel da ABTCP**. São Paulo, p. 577 a 589, 1995.

RADOLL, G. P. de. Monitoramento do processo de compostagem através dos parâmetros de pH e temperatura. 2005 15 f. **OLAM – Ciência & Tecnologia**, Rio Claro, SP. ISSN:1982-7784.

_____. **Avaliar a eficácia do sistema de tratamento de efluentes líquidos implantado por uma indústria frigorífica**. 2006. 140 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Ciências Exatas. Curso de Engenharia Ambiental. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2006. Disponível em <<http://www.utp.br>> Acesso em 15.03.2013.

RAND, G., M.; PETROCELLI, S., R. **Fundamentals of aquatic toxicology: Introduction to aquatic toxicology**. D. C. Taylor & Francis, Washington, 2ªed. 1995.

RAMSDORF, W. **Utilização de duas espécies de *Astyanax* (*Astyanax sp b e a. Altiparanae*) como bioindicadores de região contaminada por agrotóxico (Fazenda Cangüiri)**. 2007. 127 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/.../Dissertacao%20Wanessa%20Ramsdorf%20Gen...>> Acesso em 22 nov. 2012.

_____. **Avaliação da toxicidade dos compostos Fipronil, Nitrato de chumbo e Naftaleno em peixes**. 2011. 159 f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/27116/tese%20wanessa%20ramsdorf.pdf?sequence=1>> . Acesso em 20 nov. 2012.

RATTI, M.R.; PASSIG, F.H. Caracterização do efluente do matadouro municipal da cidade de Mamborê /PR. **Anais do 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 02 a 07 de setembro de 2007 – Belo Horizonte/MG.

REIDEL, A.; DAMASCENO, S.; ZENATTI, D. C.; SAMPAIO, S. C.; FEIDEN, A. QUEIROZ, M. M. F. Utilização de efluente de frigorífico, tratado com macrófita aquática, no cultivo de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.181 a 185, 2005.

RIBEIRO, L. R. **Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo**. In: RIBEIRO, L. R., SALVADORI, D. M. F., MARQUES, E. K. Mutagênese Ambiental.Canoas: Ulbra, p. 173 a 200, 2003.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente. CONSEMA. Resolução nº. 128, de 24 de novembro de 2006. **Dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul**. Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 07 dez. 2006. Disponível em:

<http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/smam/usu_doc/resolucao_consema_n_128_06.pdf> . Acesso em: 11 fev. 2013.

RIVERO, C. **Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do Lago Paranoá, Brasília, DF, Brasil.** 2007, 93 f. Dissertação – Universidade de Brasília – Faculdade de Medicina. Brasília, 2007.

RIXIAN, L. et al. The genotoxic effects of benzo[a]pyrene and methamidophos on black porgy evaluated by comet assay. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 23, p. 455 a 460, 2007.

ROCHA A.F.; SANTOS C.A.; TORRES C. J.; SILVA N.L.; SILVA J.O. Sistema de tratamento de efluentes de matadouro bovino utilizando lagoas de **estabilização** **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, vol.7, N.13; 2011 p. 1294

RODRIGUES, L. S.; SILVA, I. J.; ZOCCATO, M. C. O.; PAPA, D. N.; VON SPERLING, M.; OLIVEIRA, P. R. Avaliação de desempenho de reator UASB no tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.848 a 856, 2012.

RUBINGER, C. F. **Seleção de métodos biológicos para avaliação toxicológica de efluentes industriais.** 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Programa de Pós - Graduação em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009. Disponível em: <<http://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/438M.PDF>> . Acesso em: 30 jan. 2013.

RUGGERI, H. C. Jr. **Pós-tratamento de efluente de lagoa facultativa visando à remoção de nitrogênio amoniacal.** 2011. 361 f. Tese (Doutorado em Ciências). Setor de Hidráulica Ambiental, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2011. Disponível em:<[http:// www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3147/tde-19072011-103911/](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3147/tde-19072011-103911/)>. Acesso: em 10 abr. 2013.

SANCHEZ-GALAN, S.; LINDE, A.R.; IZQUIERDO, J.I.; GARCIA-VAZQUEZ,E. Brown trout and European minnow as target species for genotoxicity test: differential sensitivity to heavy metals. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 43. p.301 a 304, 1999.

SANTA CATARINA. Fundação do Meio Ambiente. FATMA. Portaria nº 017, 18 de abril de 2002. **Estabelece os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências.** Diário Oficial do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 23 abr. 2002. Disponível em: <http://www.carvaomineral.com.br/abcm/meioambiente/legislacoes/bd_carboniferas/agua/portaria_017-2002_na_integra.pdf> . Acesso em: 11 fev. 2013.

SANTOS T. A. da C. **Estudo sobre efeitos do naftaleno e benzeno(a)pireno em Trachinotus carolinus (Perciformes, carangidal) utilizando biomarcadores citogenéticos.** 2009. 149 f. Doutorado – Setor de Ciências Biológicas, Universidade

Estadual de São Paulo, Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/21/21131/tde.../ThaisSantos.pdf>> Acesso em 15.02.2013.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA nº. 3, de 22 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre as relações que fixam a toxicidade permissível no controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo. Diário Oficial [do] Estado de São Paulo, Poder Executivo, São Paulo, 25 de fev. 2000. Seção 1, p.24. Disponível em:

<http://www.imprensaoficial.com.br/PortalIO/DO/Popup/Pop_DO_Busca1991Resultado.aspx?Trinca=139&CadernoID=ex1&Data=20000225&Name=1396E2P0017.pdf&SubDiretorio=0&Pagina=24> . Acesso em: 11 fev. 2013.

SARDINHA, D. S.; CONCEIÇÃO, F. T.; SOUZA, A. D. G.; SILVEIRA, A.; JULIO, M.; GONÇALVES, J. C. S. I. Avaliação da qualidade da água e autodepuração do ribeirão do meio, Leme (SP). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.13, p.329 a 338, 2008.

SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v. 31, p. 9-15, 1975.

SCHOENHALS M. **Avaliação da Eficiência do Processo de Flotação Aplicado ao tratamento primário de efluentes de abatedouro avícola**, UFSC (2006). D35 Disponível em :< <http://www.repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/88890/224900.pdf?..>> Acesso em: 27. Fev.2013.

SEKINE, E.S. **Aberrações nucleares em eritrócitos de *astyanax aff.paranae* como medida para avaliar a contaminação aquática na região centro-oeste do Paraná**. SICITE XVII – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus - Campo Mourão-PR

SILVEIRA D. D. **Modelo para seleção de sistemas de tratamento de efluentes de indústrias de carnes**. 1999. 269 f. Tese de doutorado. Programa de Pós graduação em Engenharia de produção da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC,

1999. Disponível em:

<http://www.eqa.ufsc.br/disci/eqa5217/material_didatico/tratamento_residuos.pdf>

Acesso em: 15 abr. 2013

SINGH, N. P.; DANNER, D. B.; TICE, R. R.; McCOY, M. T.; COLLINS, G. D.; SCHNEIDER, E. L. Abundant alkali-sensitive sites in DNA of human and mouse sperm. **Experimental Cell Research**, v. 184, p. 461 a 470, 1989.

SOUZA, T.S.; FONTANETTI, C.S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research**, p. 87 a 93, v. 605, 2006.

SOUSA, J. T.; CEBALLOS, B. S. O.; HENRIQUE, I. N.; DANTAS, P. D.; LIMA, S. M. S. Reúso de água residuária na produção de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, p.89 a 96, 2006.

SPEECE R. E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial wastewaters**. Tennessee: Archae Press, 1996. 394p.

SPERLING, M. Von. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias Lagoas de Estabilização**, volume 1, Minas Gerais, ABES, (1996).

_____. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1996a.

_____. **Lagoas de Estabilização**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1996b.

_____. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. Universidade Federal de Minas Gerais, volumes 3 e 4, (2001, 2002 e 2005).

Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 21th, 2000.

SPINDOLA E. L. Gaeta; BRIGANTE Janete . Limnologia Fluvial. **Um estudo de caso**. Editora: Rima 98 p. 2010.

SUDERHSA – Instituto das águas do Paraná. Disponível em:
<http://www.aguasparana.pr.gov.br/arquivos/File/rel_final_sig.p>. Acesso em 10.01.2012.

THEBALDI M. S.; SANDRI D.; FELISBERTO A. B.; ROCHA M. S. da ;NETO S. A.. Qualidade da água de um córrego sob influência de efluente tratado de abate bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.15, n.3, p.302 a 309, 2011 Campina Grande, PB, UAEA/UFCG.

UNEP UNITED NATIONOUS ENVIRONMENT PROGRAMME & DANISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Danish Ministry of Environment and Energy. Cleaner Production Assessment in Meat Processing**. Dinamarca. 2000 83p.

USEPA. PARIS II: computer aided solvent design for pollution prevention. [Cincinnati,OH], 2011. Disponível em: <<http://www.epa.gov/nrmrl/std/mtb/paris.htm>> Acesso em: 12 fev. 2013.

_____. Toxicity identification evaluation: characterization of chronically toxic effluents, phase I. [Duluth, MN], 1992. Disponível em:
<<http://www.epa.gov/region8/water/wet/pdf/Phase%20I%20Characterization%20of%20Chronically%20Toxic%20Effluents.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2013.

VILCHES M. **Análise genotóxica do rio cadeia/RS através do ensaio cometa e teste de micronúcleo e anormalidades nucleares utilizando peixes como bioindicadores**. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental). Centro Universitário Feevale. Novo Hamburgo/RS 2009. Disponível em:
<<http://www.ged.feevale.br/bibvirtual/Dissertacao/DissertacaoMelissaVilches.pdf>> Acesso em: 26 fev. 2013.

VILELA C.; HAYASHI C.; **Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede**. Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá. Maringá. v. 23, n. 2, p. 491-496, 2001. Disponível em: <<http://>

www.edueemojs.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/download/.../2024> Acesso em 01. Fev.2013.

VILLELA, I.V. LAÚ; A. SILVEIRA, J.; PRÁ,D.; ROLLA, H.C.; SILVEIRA,J.D. **Bioensaios para o monitoramento de genotoxicidade ambiental.** In: SILVA J., ERDTMANN, B. HENRIQUES, J.A.P. Genética toxicológica. Porto Alegre: Alcance, 2003, 422p.

VIVAI, S.B. B. **Efeitos da fração solúvel de petróleo (FSA) no peixe antártico *Trematomus newnesi* (Boulenger, 1902).** 2011. 26 p. Dissertação (Mestrado em biologia celular). Universidade de São Paulo. São Paulo. (2011). Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42134/tde-25072012-162329/>> Acesso em: 01 Mai. 2013.

WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B. **Principles of Ecotoxicology.** Taylor & Francis. Londres, 321p., 1996.

WINTER, M. J.; DAY, N.; HAYES, R.A.; TAYLOR, E.W.; BUTLER, P.J.; CHIPMAN, J.K. DNA strand breaks and adducts determined in feral and caged chub (*Leuciscus cephalus*) exposed to rivers exhibiting variable water quality around Birmingham, UK, **Mutation Reserch**, v. 552, p. 163 a 175, 2004.

ZAGATTO (a), P. A. Ecotoxicologia. Cap. 1, p: 1 – 13. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações.** ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.

ZAGATO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações.** ZAGATTO e BERTOLETTI org. São Carlos: Rima; 2006.

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

ZHANG, Y.; WANG, Y.; YU, R.; ZHANG, S.; WU, Z. Effects of heavy metals Cd²⁺, Pb²⁺ and Zn²⁺ on DNA damage of loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Frontiers of Biology in China**, v. 3, p. 50-54, 2008.

ANEXO A – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS –
CEUA – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – SETOR DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 622

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento da CEUA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno da CEUA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEUA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

PROCESSO: 23075.023414/2012-81

APROVADO: 14/08/2012 – R.O. 07/2012

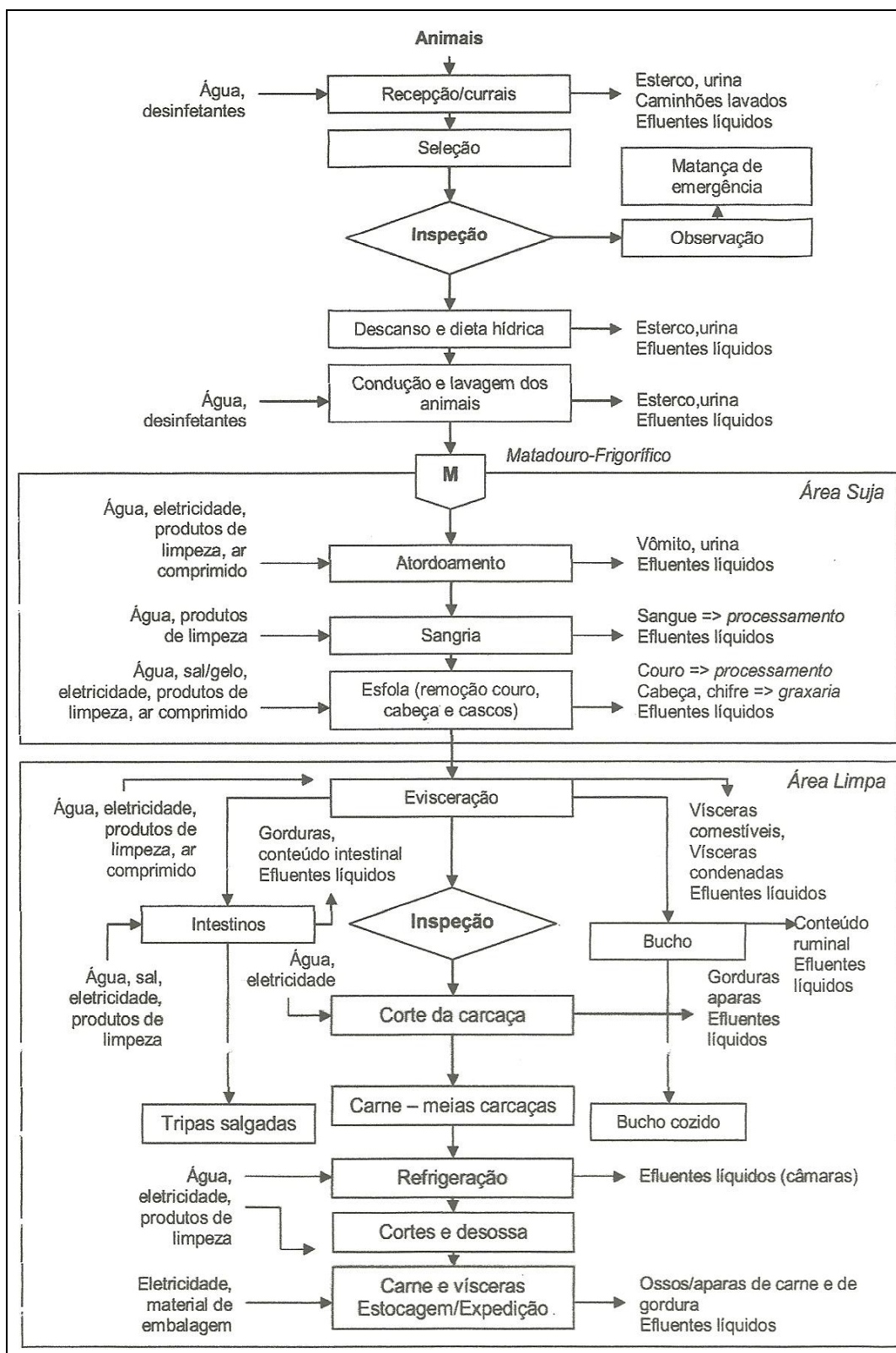
TÍTULO: Avaliação da genotoxicidade em efluentes da indústria frigorífica

AUTORES: Thomaz Aurélio Pagioro, Geni de Fátima Portela Radoll

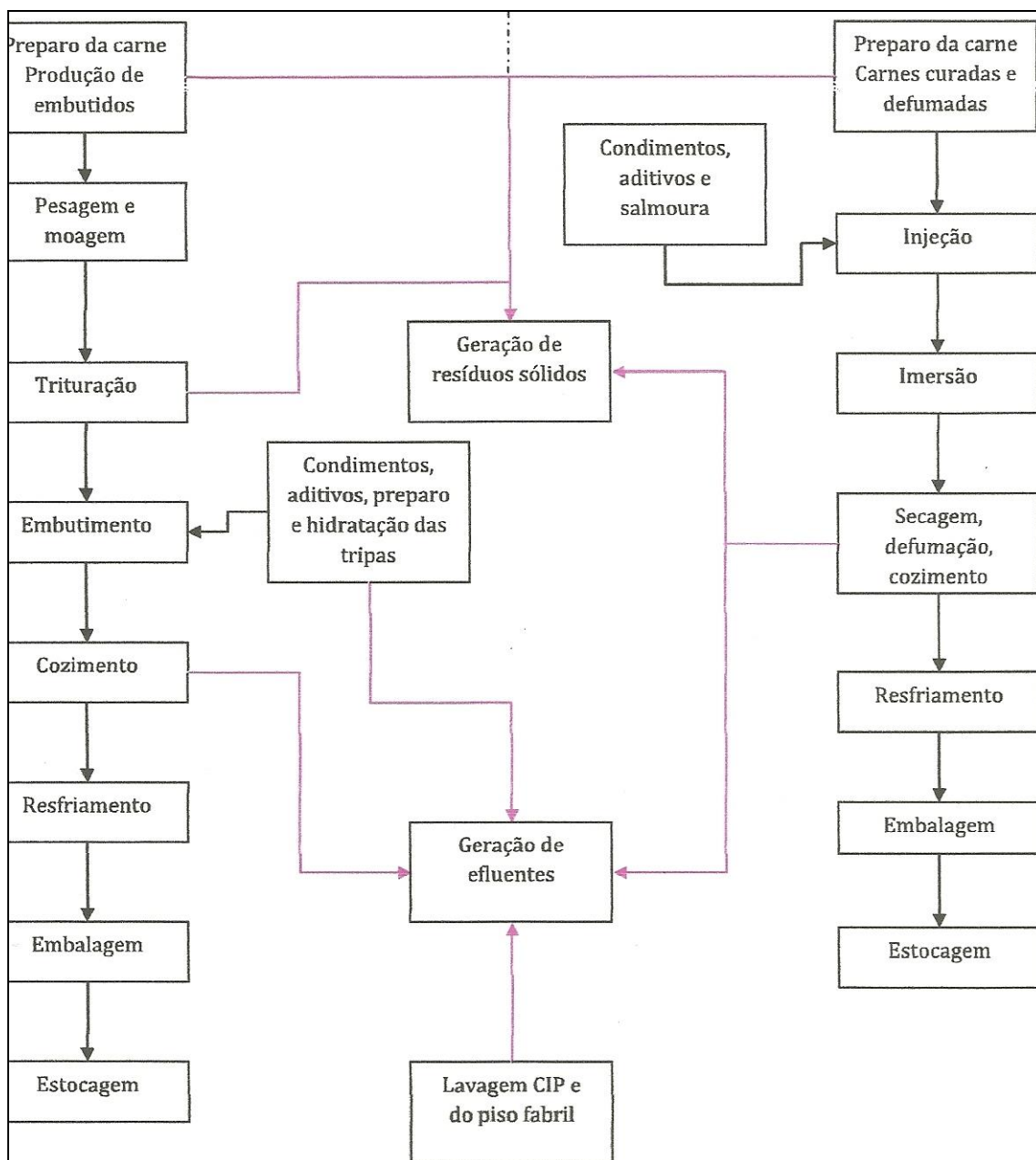
DEPARTAMENTO: Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Departamento Acadêmico de Química e Biologia

Alexsandro Zamboni

ANEXO B FLUXOGRAMA DO ABATE BOVINO DA INDÚSTRIA A
ADAPTADO DE GOMIDE *at al.*, (2006); PACHECO & YAMANAKA, (2006)



ANEXO C - FLUXOGRAMA DA PRODUÇÃO DE EMBUTIDOS E DE PRODUTOS CURADOS E DEFUMADOS DE CARNE



APÊNDICE A - TESTE DO MICRONÚCLEO PÍSCEO

1 TESTE DO MICRONÚCLEO

A técnica aplicada seguiu as seguintes etapas:

- a) Lâminas bem limpas e identificadas.
- b) Coleta-se o sangue do animal e coloca-se uma gota na superfície da lâmina.
- c) Com o auxílio de uma lamínula, faz-se o esfregaço, espalhando o sangue sobre a superfície da lâmina.
- d) As lâminas, após secagem ao ar, foram fixadas em etanol 96% por 30 minutos em cubetas.
- e) As lâminas foram coradas com Giemsa 10% diluída em tampão fosfato (pH 8,6) por 13 minutos e lavadas em água corrente.
- f) Foram analisadas 2000 células de cada animal em teste cego, sendo que somente serão consideradas na análise hemácias nucleadas com membrana nuclear e citoplasmática intactas.

Serão consideradas como micronúcleos as partículas que, em relação ao núcleo principal: não excederem 1/3 do seu tamanho e estiverem nitidamente separadas, com bordas distinguíveis e com mesma cor e refringência do núcleo. As alterações na forma elíptica normal dos núcleos das hemácias que não se enquadrarem no conceito de micronúcleo, mas que poderiam ser descritas como alterações morfológicas nucleares segundo CARRASCO, TILBURY e MYERS (1990) também serão analisadas.

APÊNDICE B - ENSAIO COMETA

1 ENSAIO COMETA

A técnica utilizada será a descrita por SINGH *et al.* (1988), com algumas alterações. Antes da coleta do material para análise, foram preparadas as lâminas com cobertura de agarose de baixo ponto de fusão (LMP) seguindo as etapas descritas a seguir.

1.1 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS COM COBERTURA DE AGAROSE

- a) Dissolver 1,5g de agarose normal em 100 ml de PBS em Erlenmeyer, com agitação por duas horas. Essa mistura será então levada ao forno de microondas até sua fervura e completa dissolução.
- b) Após a fervura, a agarose foi deixada em temperatura ambiente. Após a solidificação da agarose, esta será picada/cortada e levada novamente ao forno de microondas. Essa etapa será repetida mais uma vez. Ao final desse processo, a agarose será mantida em banho-maria a 70°C.
- c) As lâminas, previamente limpas, foram mergulhadas na agarose aquecida, sendo que o lado da lâmina contendo a porção não esmerilhada deverá ser limpo com um lenço de papel.
- d) As lâminas foram deixadas *overnight* em superfície plana e à temperatura ambiente para solidificar a cobertura de agarose.

1.2 PREPARAÇÃO DA AGAROSE DE BAIXO PONTO DE FUSÃO (LMP)

- a) Dissolver 100mg de agarose normal em 20 ml de PBS e levar para fervura em forno de microondas somente uma vez.
- b) Esta agarose será mantida em geladeira até o momento do uso, quando será então aquecida em banho-maria e mantida em 37°C.

O material coletado foi armazenado em tubo de microcentrífuga do tipo ependorf e mantido sob refrigeração e ao abrigo da luz até a montagem das lâminas.

1.3 PROCEDIMENTOS DO ENSAIO COMETA COM SANGUE

Para o ensaio cometa com sangue de lambaris, o procedimento para montagem das lâminas consistirá das seguintes etapas:

- a) Serão coletados 10 μ L de sangue de cada animal e misturados com 1mL de soro bovino fetal. Desta solução, serão coletados 10 μ L e misturados com 120 μ L de agarose LMP, previamente preparada e levemente aquecida (37°C).
- b) Esta suspensão celular será então depositada sobre uma lâmina que já estava com a cobertura de agarose.
- c) Após a deposição da mistura agarose e suspensão celular sobre a lâmina, esta será então coberta com uma lamínula e levada a geladeira por 15 minutos.
- d) Decorrido o tempo de refrigeração, as lamínulas serão gentilmente retiradas.
- e) As lâminas serão então acondicionadas em cubetas contendo a solução de lise por 24 horas.
- f) Após o tempo na solução de lise, as lâminas serão transferidas para uma cuba horizontal de eletroforese. Quando necessário, os espaços existentes serão preenchidos com lâminas limpas.
- g) A cuba foi mantida sob refrigeração e no escuro.
- h) Na cuba de eletroforese foi suavemente adicionada a solução de eletroforese com pH maior que 13, de maneira a cobrir as lâminas.
- i) Antes do início da corrida eletroforética, as lâminas ficarão na solução de eletroforese por 30 minutos para a desespiralização do DNA.
- j) Em seguida, iniciou-se a corrida de eletroforese a 25V e 300 mA por 25 minutos.
- l) Após o tempo de corrida, as lâminas foram retiradas da cuba e neutralizadas com um tampão de neutralização (pH 7,5) por 5 minutos. Esse processo foi realizado em 3 seções, com 5 minutos para cada seção. Essa neutralização é realizada aplicando diretamente o tampão sobre as lâminas com o auxílio de uma pipeta sobre uma superfície plana.
- m) As lâminas secaram em temperatura ambiente.
- n) Após a secagem, as lâminas serão fixadas em etanol 96% por 5 minutos.
- o) As lâminas foram então guardadas para posterior coloração e visualização.
- p) Para a coloração, serão adicionados 25 μ l de brometo de etídeo em cada lâmina após cada lâmina foi coberta com lamínula e levada ao microscópio de epifluorescência com aumento de 400x.
- q) Foram analisados 100 núcleos em cada lâmina.

r) Os núcleos foram classificados de acordo com o dano, conforme o comprimento da cauda formada após a corrida eletroforética. A classificação dos núcleos foi realizada conforme as classes: 0 (sem dano aparente), 1 (dano pequeno), 2 (dano médio), 3 (dano máximo) e 4 (núcleo em apoptose).

s) Foi realizada a quantificação dos tipos de danos e a atribuição de escores em cada classe.