

# MUTAGENICIDADE E GENOTOXICIDADE EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E SUBTERRÂNEAS ANTES E APÓS O TRATAMENTO DA ÁGUA

## MUTAGENICITY AND GENOTOXICITY OF SUPERFICIAL AND GROUNDWATER BEFORE AND AFTER WATER TREATMENT

Gabriela Helena da Silva<sup>1</sup>; Tâmara Guindo Messias<sup>2</sup>; Daniela Morais Leme<sup>3</sup>; Regina Teresa Rosim Monteiro<sup>4</sup>

<sup>1, 2, 4</sup>Centro de Energia Nuclear, Universidade de São Paulo. E-mail: ghsilva@cena.usp.br, tamessias@gmail.com, monteiro@cena.usp.com

<sup>3</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. E-mail: danileme@hotmail.com

---

### RESUMO

A desinfecção da água é um processo milenar, apesar disso, há poucos estudos sobre a segurança do uso de compostos químicos para a população consumidora. Sabe-se que o cloro, reagindo com a matéria orgânica presente na água, pode formar trihalometanos (TAMs). A exposição às águas cloradas como alimento, banho, recreação ou outros usos têm sido causa de preocupação devido aos danos à saúde, sendo o câncer de bexiga o mais preocupante. Visando avaliar a formação de danos no material genético, como quebras cromossômicas, pontes, e outros que causam perda de material genético durante a divisão celular, foram realizados testes de genotoxicidade e mutagenicidade em água para consumo humano, utilizando *Allium cepa*. Para os testes foram coletadas amostras de água bruta e tratada em quatro diferentes estações de tratamento de água (ETA) do município de Piracicaba, SP. As frequências de aberrações cromossômicas (AC) e de micronúcleo (MN) foram analisadas após exposição das sementes, em três períodos, no ano de 2008. Valores significativos foram encontrados para amostras de água bruta e tratada, quando comparado ao controle. Nas amostras de águas oriundas de região predominantemente agrícola, ocorreu maior toxicidade após o tratamento. Sugere-se que esses valores foram, provavelmente, decorrentes dos produtos utilizados na agricultura e transportados para os corpos hídricos. Isto contribui para o aumento da carga orgânica e a possibilidade de formação de TAMs, devido ao uso do cloro nas amostras de água tratada. Esses resultados devem servir de alerta para a possibilidade de estar ocorrendo à formação de compostos cancerígenos durante o tratamento das águas.

**Palavras-chave:** Desinfecção. *Allium cepa*. Saúde humana. Aberrações cromossômicas.

---

### ABSTRACT

Water disinfection is a millenarian process; nevertheless, there are few studies about the safe use of chemicals for the consumer population. It is known that chlorine can react with the organic matter present in the water and form trihalomethanes (TAMs). Exposure to chlorinated water, which occurs by food, bathing, recreation or other uses have been the cause for concern due the damage

caused to health, being bladder cancer the most worrisome. To evaluate the formation of genetic material damage, such as chromosome breaks, bridges, and others that cause loss of genetic material during cell division, genotoxicity and mutagenicity tests was performed using *Allium cepa* in samples of chlorinated drinking water. For the tests, samples of natural and treated water on four different water treatment stations from the city of Piracicaba, SP were used. The frequencies of chromosomal aberrations (AC) and micronucleus (MN) were analyzed after exposure of seeds, in three periods of 2008. Significant values of toxicity were found for samples of untreated and treated water compared to control. In water samples from a region that is predominantly agricultural, there was greater toxicity after treatment. It is suggested that these values are probably derived from products used in agriculture, transported to water bodies, increasing the organic load and the possibility of formation of TAMs, due to the use of chlorine in treated water samples. These results emphasize the possibility of formation of carcinogenic compounds during water treatment.

**Keywords:** Disinfection. *Allium cepa*. Human health. Chromosome aberrations.

---

## 1. INTRODUÇÃO

O impacto da carga total de doenças que poderiam ser evitadas por melhorias relacionadas à água potável, saneamento, higiene e gerenciamento de recursos hídricos é bastante conhecido (GROSS et al., 1989; RICHARDSON et al., 2007). Ainda é visível, entretanto, a entrada de material orgânico poluente nos corpos hídricos oriundo do saneamento urbano, ou devido ao transporte pelas águas de chuva, necessitando de maneira crescente do tratamento da água para sua utilização. No tratamento da água a ser distribuída para a população, são utilizados produtos químicos, entre os quais o cloro na forma de gás, e/ou hipoclorito na forma líquida, adicionados logo no início do processo como forte oxidante. Este auxilia a degradação de compostos contaminantes presentes e na desinfecção no final do tratamento (MEYER, 1994). Entre os métodos de tratamento da água, como ozonização, luz ultravioleta e outros, o uso do cloro se destaca pela sua eficiência, praticidade e custo (PASCOLATO et al., 2008; RICHARDSON et al., 2007).

No tratamento da água, o cloro pode reagir com compostos orgânicos disponíveis e formar subprodutos tóxicos, sendo os mais conhecidos os trihalometanos (TAM), como: clorofórmio ou triclorometano ( $\text{CHCl}_3$ ), bromodichlorometano ( $\text{CHBrCl}_2$ ), dibromoclorometano ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ), entre outros (PLEWA et al., 2003). A presença de TAM e outros subprodutos, formados no tratamento e na rede de distribuição das águas, é preocupação para a saúde pública, sendo monitorados com bases na Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde, onde o padrão máximo para água de consumo humano é de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Estudos epidemiológicos mostraram associações entre a presença de TAM e o câncer de bexiga (VILLANUEVA et al., 2001). O contato direto com a água, como banho ou recreação, que leva a uma exposição maior pelas vias de inalação e absorção dermal, apresenta maiores riscos do que a ingestão ou preparo dos alimentos, principalmente para indivíduos possuidores do gene GSTT1 (VILLANUEVA, 2007).

Estudos com ratos mostraram que existe uma alta probabilidade da relação entre o câncer de bexiga, cólon e reto com a exposição a TAM (RICHARDSON et al, 2007). Além disso, Santos e Gouveia (2011) mostraram associações entre a presença de trihalometanos na água de abastecimento, fornecida aos municípios da região metropolitana de São Paulo, aos aspectos relacionados com recém-nascidos, como baixo peso ao nascer, prematuridade, malformação congênita, malformação no tubo neural e do sistema nervoso central.

Ensaio de mutagenicidade e genotoxicidade são capazes de detectar efeitos sinérgicos devido à ação complexa de todos os compostos químicos presentes na água, permitindo uma avaliação global das amostras quando analisadas. Monitoramentos de águas tratadas, águas

superficiais e efluentes com teste utilizando *Allium cepa* foram realizados por diversos autores (SMAKA-KINCLL et al., 1996; MATSUMOTO et al., 2006, BARBÉRIO et al., 2009; FERETTI et al., 2012). Outras plantas superiores têm sido também utilizadas para monitoramento do ambiente como *Tradescantia spp*, *Vicia faba*, *Crepis capillaris*, *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum* e *Zea mays* (GRANT, 1999; MONARCA et al., 2005; DUQUESNOY et al., 2010; FERETTI et al., 2012). RANK e NIELSEN (1994) observaram uma correlação de 82% entre os testes com *A. cepa* e ensaios de carcinogenicidade em roedores. Outros estudos também mostraram haver concordância entre os testes em sistemas vegetais e de mamíferos (VICENTINI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007; RAY et al., 2013).

Aberrações cromossômicas (AC) são reconhecidas como importantes consequências de ações genotóxicas resultantes da exposição a agentes químicos (NATARAJAN, 2002). Estudos epidemiológicos têm mostrado que pessoas com elevadas frequências de AC apresentam maiores riscos de desenvolvimento de câncer (OBE et al., 2002). O Teste do Micronúcleo (MN) detecta danos causados no material genético, como quebra cromossômica ou perdas de cromossomos inteiros, que são visualizados nas células filhas como estruturas similares a núcleos, porém de tamanho reduzido (VALENTIN-SEVERIN et al., 2003). A técnica de micronúcleos representa uma maneira simples e precisa de se estimar dano genético induzido, devido ao grande número de células que pode ser analisada (EL-SHAHABY et al., 2003). Como a divisão celular é essencial para a avaliação de MN, pois os mesmos são resultantes da progressão de algumas AC, a quantificação deste *endpoint* em células da geração F<sub>1</sub> (região não meristemática) tem sido utilizada por alguns autores (MA et al., 1995; LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Muitos estudos indicaram que os compostos utilizados para a desinfecção podem causar danos genéticos em células (MONARCA et al., 2005; FERETTI et al., 2008). Neste estudo foi avaliada a frequência de AC e MN em raízes de *A. cepa*, tratadas com amostras de águas subterrâneas e superficiais, antes e após o tratamento com gás cloro e com hipoclorito, visando avaliar a segurança e eficiência do tratamento de água.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Testes de genotoxicidade com *A. cepa*, foram feitos de acordo com Fiskesjö (1993) e aplicados para comparar águas coletadas, antes e após o tratamento, em três Estações de Tratamento (ETAs) do município de Piracicaba, SP. Amostras de um litro de água foram coletadas em frascos plásticos, com tampa de rosca, previamente lavados com detergente livre de fósforo, enxaguados em água destilada e secos em estufa. As coletas das amostras foram realizadas em sete pontos das estações de tratamento de Piracicaba: ETA I: água do rio Piracicaba tratada com hipoclorito; ETA II: água do rio Piracicaba tratada com gás cloro; Pira: água bruta do rio Piracicaba, coletada na estação de tratamento; ETA III: água do rio Corumbataí tratada com gás cloro; Cor: água bruta do rio Corumbataí, coletada na estação de tratamento; ETA IV: Água de poço tratada com hipoclorito e Poço: água bruta de poço coletada na estação de tratamento.

As coletas foram realizadas nos períodos de chuva, intermediário e seca, nos oitos pontos no mesmo dia, em março, agosto e novembro de 2008, com média mensal de precipitação de 132,4, 68,7 e 24,3 mm, respectivamente, ou ainda cinco dias antes da amostragem: 0,0, 18,9 e 2,8 mm. Amostras de água destilada serviram como controle negativo.

As sementes de *A. cepa* foram colocadas para germinar em papel filtro ajustados em placas de Petri e umedecidos com as amostras de água coletadas. Quando as raízes atingiram 2,0 cm de comprimento, aproximadamente sete dias após o início do ensaio, elas foram coletadas e fixadas em álcool-ácido acético (3:1, v/v), por 24 h. As raízes fixadas foram submetidas à coloração em reativo de Schiff e as lâminas, tanto da região meristemática como da região F<sub>1</sub>, foram confeccionadas

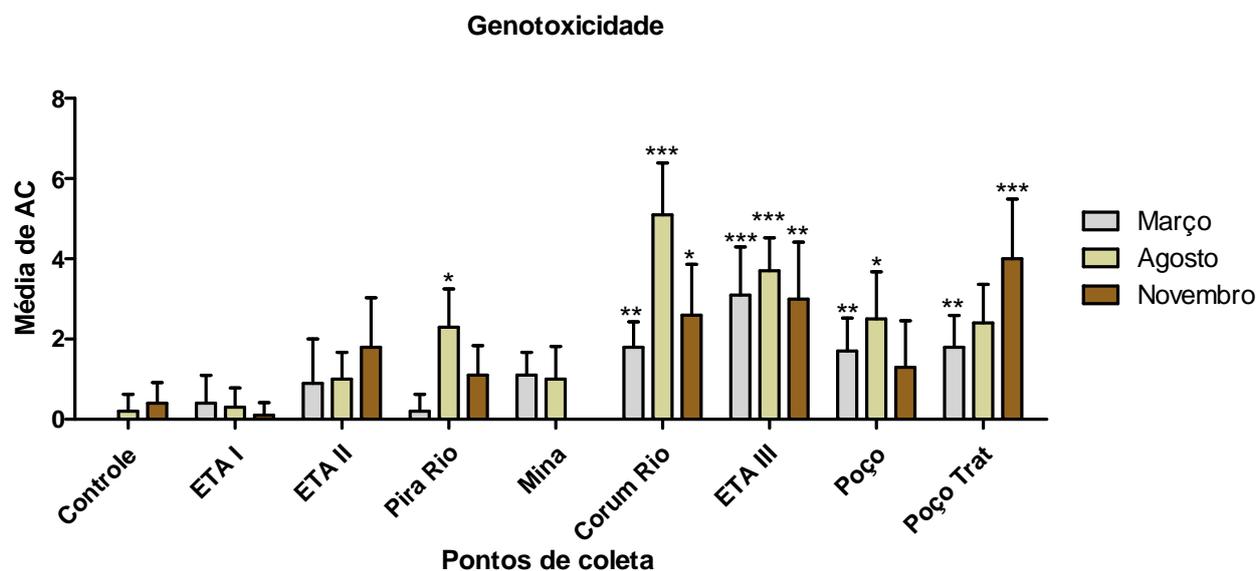
segundo o procedimento descrito por Leme e Marin-Morales (2008). Foram analisadas 5000 células randomicamente em um total de 10 lâminas (500 células/lâmina). Para a análise das AC, diferentes anormalidades como fragmentos, perdas, atrasos e aderências cromossômicas foram contabilizados em diferentes fases da divisão celular.

A análise de MN na região F<sub>1</sub> foi considerada como outra variável de avaliação, não sendo agrupada junto as AC. Os resultados obtidos no sistema-teste com *A. cepa* foram divididos em efeito genotóxico, avaliado pela frequência de AC, e efeito mutagênico, avaliado pela frequência de MN, pelos programas GraphPad InStat e pelo teste estatístico Kruskal-Wallis, a fim de determinar a correlação de significância entre as diferentes amostras. As frequências de células alteradas foram calculadas pela relação entre as células portadoras de AC, ou presença de MN, e o total de células observadas, multiplicado por 100.

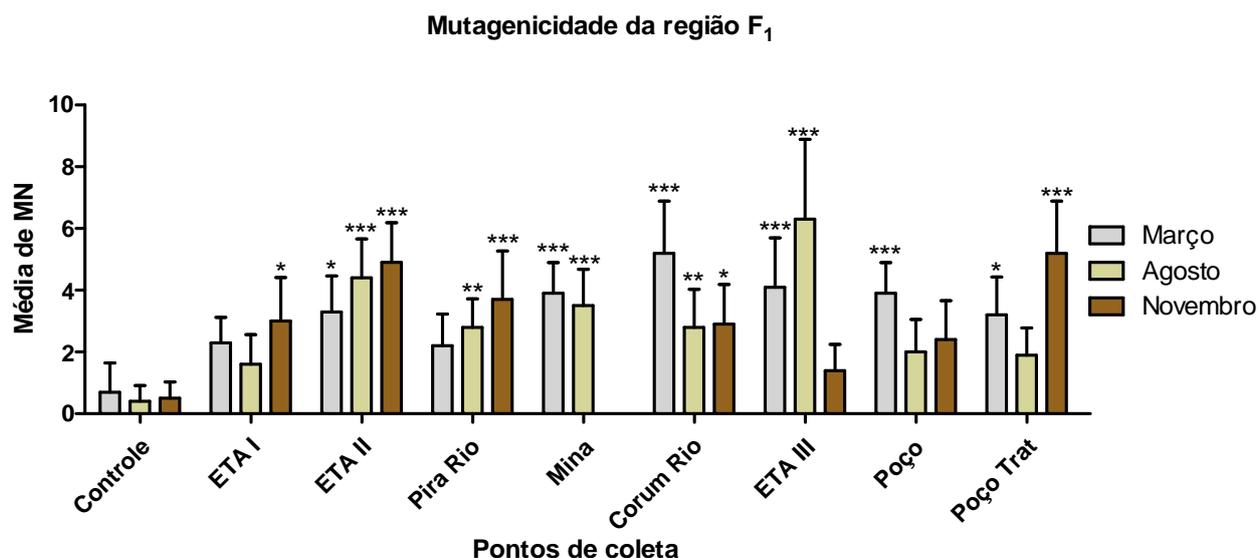
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito à análise temporal dos dados obtidos para mutagenicidade e genotoxicidade, não houve diferença estatisticamente significativa quanto à época da coleta. Houve um alto índice de genotoxicidade na água coletada pela ETA III, antes e após o tratamento, e também na água de poço, tratada e não tratada, em comparação com o controle (Figura 1). No que se refere aos testes de mutagenicidade, houve significância estatisticamente significativa quando comparados com o controle, em todos os pontos em pelo menos um período de coleta (Figura 2).

A água tratada com gás cloro (ETA II e ETA III) apresentou maior formação de AC e MN do que as amostras tratadas com hipoclorito, exceto no caso da ETA IV que também teve um alto índice de AC e MN. Também foi observado alto índice de genotoxicidade e mutagenicidade na água bruta (Pira, Cor, Poço).



**Figura 1.** Média e desvio padrão de aberrações cromossômicas (AC) da região meristemática da raiz de *A. cepa* em três épocas de coleta. \*\*\* =  $P < 0,001$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \* =  $P < 0,05$  (teste de Kruskal-Wallis)



**Figura 2.** Média e desvio padrão de micronúcleo (MN) na região F<sub>1</sub> da raiz de *A. cepa* em três épocas de coleta. \*\*\* = P<0,001; \*\* = P<0,01; \* = P<0,05 (teste de Kruskal-Wallis)

Quando comparadas a água tratada e não tratada quanto ao teste de mutagenicidade, apenas na coleta na ETA III (água antes e após tratamento), em agosto, houve resultado positivo (Tabela 1), mostrando formação de compostos mutagênicos após o tratamento da água. E para o teste de genotoxicidade houve resultado positivo, em novembro, na comparação entre água tratada e não tratada da ETA I e da ETA IV (Tabela 1). Na ETA I houve uma diminuição significativa nos compostos genotóxicos existentes na água antes do tratamento, já na ETA IV foi observada formação de compostos genotóxicos, após o tratamento da água.

Diversos estudos demonstraram grande potencial genotóxico e mutagênico dos diferentes produtos utilizados na desinfecção da água (ROMERO et al., 1992; KOIVUSALO et al., 1994; MONARCA et al., 2003, 2005; FERETTI et al., 2008). A ocorrência de mutagenicidade e genotoxicidade nos meses de coleta não apresentou grandes diferenças, provavelmente, devido à maior toxicidade vir de efluentes domésticos e/ou industriais, ou, no caso da amostra do poço, vir por lixiviação, além do carreamento de materiais pelas chuvas nos meses de março e agosto.

**Tabela 1** - Comparação entre água antes e após o tratamento, nas análises de mutagenicidade e genotoxicidade para *A. cepa*.

<b>Mutagenicidade</b>						
Comparação	Março		Agosto		Novembro	
	Média±Desvio Padrão	Valor de P	Média±Desvio Padrão	Valor de P	Média±Desvio Padrão	Valor de P
<b>ETA I VS. PIRA</b>	2,3±0,8 vs. 2,2±1,0	NS	1,6±0,9 vs. 2,8±0,9	NS	3±1,4 vs. 3,7±1,5	NS
<b>ETA II vs. PIRA</b>	3,3±1,1 vs. 2,2±1,0	NS	4,4±1,2 vs. 2,8±0,9	NS	4,9±1,2 vs. 3,7±1,5	NS
<b>COR vs. ETA III</b>	5,2±1,6 vs. 4,1±1,6	NS	2,8±1,2 vs. 6,3±2,5	***	2,9±1,2 vs. 1,4±0,8	NS
<b>Poço vs. ETA IV</b>	3,9±1 vs. 3,2±1,2	NS	2±1,0 vs. 1,9±0,8	NS	2,4±1,2 vs. 5,2±1,6	NS

### Genotoxicidade

Comparação	Março		Agosto		Novembro	
	Média±Desvio Padrão	Valor de P	Média±Desvio Padrão	Valor de P	Média±Desvio Padrão	Valor de P
ETA I vs. PIRA	0,4±0,7 vs. 0,2±0,4	NS	0,3±0,4 vs. 2,3±0,9	NS	0,1±0,3 vs. 1,1±0,7	**
ETA II vs. PIRA	0,9±1,1 vs. 0,2±0,4	NS	1±0,6 vs. 2,3±0,9	NS	1,8±1,2 vs. 1,1±0,7	NS
COR vs. ETA III	1,8±0,6 vs. 3,1±1,2	NS	5,1±1,2 vs. 3,7±0,8	NS	2,6±1,2 vs. 3±1,4	NS
Poço vs. ETA IV	1,7±0,8 vs. 1,8±0,7	NS	2,5±1,1 vs. 2,4±0,9	NS	1,3±1,1 vs. 4±1,5	*

\*\*\* = P<0,001; \*\* = P<0,01; \* = P<0,05 (teste de Kruskal-Wallis); NS = Não Significativo

Além da matéria orgânica, sabe-se que fertilizantes e pesticidas alcançam os corpos de água transportados pelo escoamento de enxurradas ou lixiviação (poluição difusa). ARMAS (2007) detectou que no início as chuvas há um número maior de moléculas de atrazina, ametrina, simazina, glifosato e clomazona e em níveis mais elevados no rio Corumbataí. A importância da contaminação das áreas agrícolas e da toxicidade pode ser demonstrada pelos resultados significativos de AC e MN, obtidos na região do rio Corumbataí e nas amostras da água de Poço.

Em contato com o cloro, os compostos orgânicos nas estações de tratamento de água podem ser transformados em compostos menos ou mais tóxicos, e estes, se não forem eliminados durante o processo podem induzir à formação de MN e de AC. Sugere-se que os valores significativos de AC e MN observados nas células de *A. cepa*, sejam, provavelmente, decorrentes do escoamento de matéria orgânica para os rios, trazendo produtos utilizados na agricultura, e também da possibilidade de formação de TAMs, devido ao uso do cloro nas amostras de água tratada. Muitos desses podem mostrar efeitos genotóxicos e mutagênicos sobre os organismos expostos. MONARCA et al. (2005) e FERETTI et al. (2008) avaliaram a genotoxicidade dos diversos desinfetantes utilizados no tratamento da água e encontraram valores significativos. Foi visto também que a água tratada com gás cloro apresentou maior potencial genotóxico e mutagênico do que a água tratada com hipoclorito. Nos estudos de Monarca et al. (2005) o hipoclorito também apresentou menor genotoxicidade, demonstrando a importância do cloro livre para a formação dos trihalometanos.

Apesar do teste de *A. cepa* ter grande aceitação como teste de monitoramento ambiental, alguns autores apresentam certa restrição quanto à utilização de sistemas-teste vegetais na avaliação de certas classes de carcinógenos (UHL et al., 2003). Tal fato é devido ao complexo sistema de metabolização, presente nos mamíferos, necessário para ativação do potencial genotóxico dessas substâncias. Estudos de sistemas de ativação metabólica em plantas, no entanto, vêm sendo realizados há anos, e a capacidade de vegetais superiores ativarem promutágenos em mutágenos já foi comprovada por vários pesquisadores (PLEWA et al, 2003). Os resultados gerados pelo teste de *A. cepa*, portanto, devem ser considerados como alarme, alertando para a possibilidade de ação semelhante em outros organismos.

## 4. CONCLUSÕES

Esta pesquisa confirma que o tratamento da água ainda não é 100% eficiente e pode causar riscos a população. Novas técnicas para o tratamento da água e novos compostos para desinfecção

já estão sendo desenvolvidos para que essas novas técnicas venham a ser seguras. O teste de aberrações cromossômicas com *A. cepa* pode ser utilizado para avaliar a segurança do uso de novos compostos, pois é um teste sensível, rápido, podendo detectar efeitos genotóxicos e mutagênicos de compostos em baixas concentrações.

## 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa de iniciação científica PIBIC e pela bolsa PQ de produtividade em pesquisa.

## 6. REFERÊNCIAS

ARMAS, ED.; MONTEIRO, RTR.; ANTUNER, PM.; SANTOS, MAPF.; CAMARGO, PB.; ABAKERLI, RB. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, 2007.

BARBÉRIO, A.; BARROS, L.; VOLTOLINI, J.C.; MELLO, M.L.S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Braz. J. Biol.**, v.69, n.3, p.837-842, 2009.

DUQUESNOY, I.; CHAMPEAU, G.M.; EVRAY, G.; PIQUET-PISSALOUX, A. Enzymatic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Zea mays* and genotoxic effect of arsenic in root tips of *Vicia faba* and *Zea mays*. **Comptes. Rendus Biologies**, v. 333, n. 11-12, p. 814-824, 2010.

EL-SHAHABY, A.O.; ABDEL MIGID, HM.; SOLIMAN, MI.; MASHALY, IA. Genotoxicity Screening of Industrial Wasterwater Using the *Allium Cepa* Chromosome Aberration Assay. **Pak. J. Biol. Sci.**, Baltimore, v. 42, n. 6, p. 181-189, 2003.

FACHINETTO, J.M.; BAGATINI, M.D.; DURIGON, J.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Rev. Bras. Farmacogn**, v. 17, p. 49-54, 2007.

FERETTI, D.; CERETTI, E.; GUSTAVINO, B.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; MONARCA, S.; RIZZONI, M. Ground and surface water for drinking: A laboratory study on genotoxicity using plant tests. **J. of Pub. Health Res.**, v. 1, n. 1, p. 31-37, 2012.

FERETTI, D.; ZERBINI, I.; CERETTI, E.; VILLARINI, M.; ZANI, C.; MORETT, M.; FATIGOMI, C.; ORIZIO, G.; DONATO, F.; MONARCA, S. Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests, **Water Res.**, v. 42, n. 15, p. 4075-4082, 2008.

FISKESJÖ, G. The *Allium cepa* test in wastewater monitoring. **Environ. Toxicol. Water Qual.**, v. 8, p. 291-298, 1993.

GRANT, W.F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and mutations - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 426, p. 107-112, 1999.

GROSS, R.; SCHELL, B.; MOLINA, M.C.B.; LEÃO, M.A.C.; STRACK, V. The impact of improvement of water supply and sanitation facilities on diarrhea and intestinal parasites: a Brazilian experience with children in two low income urban communities. **Rev. Saú. Públ.**, v. 23, n. 3, p. 214-220, 1989.

KOIVUSALO, M.; JAAKKOLA, J.J.K.; VARTAINEN, T. Drinking water mutagenicity in past exposure assessment of the studies on drinking water and cancer: application and evaluation in Finland. **Environ. Res.**, v. 64, p. 90-101, 1994.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. **Mut. Res.**, v. 650, p. 80-86, 2008.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mut. Res.**, v. 682, p. 71-81, 2009.

MA, T.H.; XU, C.; MCCONNELL, H.; RABAGO, E.V.; ARREOLA, G.A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants, **Mutat. Res.**, v. 334, p. 185-195, 1995.

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

MEYER, S.T. O uso de cloro na desinfecção de Águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Cad. Saú. Públ.**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 99-110, 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Portaria nº 2.914/2011**. Diário Oficial da União, Brasília, v. 1, p. 39-46, 2011.

MONARCA, S.; FERETTI, D.; ZANI, C.; RIZZONI, M.; CASARELLA, S.; GUSTAVINO, B. Genotoxicity of drinking water disinfectants in plant bioassays. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 46, p. 96-103, 2005.

MONARCA, S.; RIZZONI, M.; GUSTAVINO, B.; ZANI, C.; ALBERTI, A.; FERETTI, D.; ZERBINI, I. Genotoxicity of surface water treated with different disinfectants using in situ plant tests. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 41, p. 352-359, 2003.

NATARAJAN, A.T. Chromosome aberration: past, present and future. **Mutat. Res.**, Orlando, v. 504, p. 3-16, 2002.

OBE, G.; PFEIFFER, P.; SAVAGE, J.R.K.; JOHANNES, C.; GOEDECKE, W.; JEPPESEN, P.; NATARAJAN, AT.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, W.; FOLLE, GA.; DRETS, ME. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutat. Res.**, Orlando, v. 504, p. 17-36, 2002.

PASCOLATO, C.F.P.R.; TRIMAILOVAS, M.R.; DI-BERNARDO, L. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peroxônio e pós-cloração em água contendo substâncias úmicas. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 13, n. 3, p. 313-322, 2008.

PLEWA, M.J.; WAGNER, E.D.; JU, Y.H. The plant activation of aromatic amines in unique high molecular weight agents that induced genomic DNA damage in mammalian cells. IN: MALUSZYNSKA, J.; PLEWA, M. (Org.). **bioassays in plant cells for improvement of ecosystem and human health: a course manual**. Katowice, 2003, p. 39-60.

RANK, J.; NIELSEN, MH. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutat. Res.**, v. 312, p. 17-24, 1994.

RAY, S.; KUNDU, L.M.; GOSWAMI, S.; ROY, G.C.; CHATTERJEE, S.; DUTTA, S.; CHAUDHURI, A.; CHAKRABARTI, C.S. Metaphase arrest and delay in cell cycle kinetics of root apical meristems and mouse bone marrow cells treated with leaf aqueous extract of *Clerodendrum viscosum* Vent. **Cell Prolifer.**, v. 46, p. 109–117, 2013.

RICHARDSON, S.D.; PLEWA, M.J.; WAGNER, E.D.; SCHOENY, R.; De MARINI, D.M. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. **Mutat. Res.**, v. 636, p. 178-242, 2007.

ROMERO, J.; RIBO, G.; VENTURA, F.; CAIXACH, J.; MORENO, P.; RIVERA, J. Ames and sister chromatid exchange test of organic extracts from drinking water. **Bull Environ. Contam. Toxicol.**, v. 49, p. 259-265, 1992.

SANTOS, S.M.; GOUVEIA, N. Presença de trihalometanos na água e efeitos adversos na gravidez. **Rev. bras. epidemiol.**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 106-119, 2011.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M.J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 368, p. 171-179, 1996.

TEIXEIRA, R.O.; CAMPAROTO, M.L.; MANTOVANI, M.S.; VICENTINI, V.E.P. Assesment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in vivo assays. **Genet. Mol. Biol.**, v. 26, p. 551-555, 2003.

UHL, M.; PLEWA, M.J.; MAJER, B.J.; KNASMÜLLER, S. Basic principles of genetic toxicology with an emphasis on plant bioassays. In: MALUSZYNSKA, J.; PLEWA, M. (Org.). **Bioassays in plant cells for improvement of ecosystem and human health: a course manual**. Katowice, 2003. p. 11-30.

VALENTIN-SEVERIN, I.; HEGARAT, L.L.; LHUGUENOT, J.C.; LEBON, A.M.; CHAGNON, M.C. Use of HepG2 cell line for indirect mutagens screening: comparative investigation between comet and micronucleos assays. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 536, p. 79-90, 2003.

VILLANUEVA, C.M.; CANTOR, K.P.; GRIMALT, J.O.; MALATS, N.; SILVERMAN, D.; TARDON, A.; GARCIA-CLOSAS, R.; SERRA, C.; CARRATO, A.; CASTAÑO-VINYALS, G.; MARCOS, R.; ROTHMAN, N.; REAL, FX.; DOSEMECI, M.; KOGEVINAS, M. Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering and swimming in pools. **Am. J. Epidemiol.**, v. 165, p. 148-156, 2007.

VILLANUEVA, C.M.; KOGEVINAS, M.; GRIMALT, J.O. Cloración del agua potable y efectos sobre la salud: revisión de estudios epidemiológicos. **Med. Clin.**, v. 117, p. 27-35, 2001.

VINCENTINI, V.E.P.; CAMPAROTO, M.L.; TEIXEIRA, R.O.; MANTOVANI, M.S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Sci.**, v. 23, p. 593-598, 2001.

*Manuscrito recebido em: 19/06/2012*  
*Revisado e Aceito em: 29/04/2013*

