

### III-038 - BIOMARCADORES DE TOXICIDADE SUB-LETAL PARA AVALIAÇÃO DE IMPACTOS DO EFLUENTE DO TRATAMENTO COMBINADO DE LIXIVIADO DE ATERRO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS E ESGOTO DOMÉSTICO

**Camille Ferreira Mannarino<sup>(1)</sup>**

D.Sc. em Saúde Pública e Meio Ambiente – ENSP/FIOCRUZ, M.E. em Engenharia Ambiental – PEAMB/UERJ, Engenheira Civil – Ênfase em Eng. Sanitária e Ambiental – FEN/UERJ, Professora Visitante do Depto. de Eng. Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ

**João Alberto Ferreira**

D.Sc. em Saúde Pública – ENSP/FIOCRUZ, M.Sc. em Engenharia Ambiental - Manhattan College, EUA, Engenheiro Mecânico – UFU, Prof. Adjunto do Depto. de Eng. Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ

**Josino Costa Moreira**

Pós-doutor - Loughborough University, Inglaterra, D.Sc. em Química - Loughborough University, Inglaterra, M.Sc. em Química - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro - PUC/RJ, Tecnologista Sênior da FIOCRUZ

**Ana Rosa Linde Arias**

Pós-doutora - Merck Research Laboratories, EUA, D.Sc. em Ciências Ambientais - Hokkaido University, Japão, D.Sc. em Biologia Funcional - Universidad de Oviedo, Espanha, M.Sc. em Genética - Universidad de Oviedo, Espanha, Bióloga - Universidad de Oviedo, Espanha, Pesquisadora Visitante da FIOCRUZ

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Depto. de Eng. Sanitária e do Meio Ambiente - Av. São Francisco Xavier, 524, sala 5029 - F, Prédio João Lira Filho, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP: 20550-900, Tel: +55 (21) 2334-0311 ramal 15 - e-mail: [camille@eng.uerj.br](mailto:camille@eng.uerj.br)

#### RESUMO

O trabalho apresenta a avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado do lixiviado de um aterro de resíduos sólidos urbanos em uma estação de tratamento de esgotos em escala piloto em peixes do tipo Tilápia, utilizando como ferramenta biomarcadores indicativos de efeitos tóxicos sub-letais. A estação de tratamento piloto recebeu esgoto doméstico da ETE Icaraí e lixiviado do Aterro do Morro do Céu, ambos na cidade de Niterói (RJ). Foram realizados cinco experimentos de exposição dos peixes ao efluente tratado da estação piloto, com tempos de duração de 7 e 14 dias e proporções em volume de lixiviado de 0,5% a 2,5%. Os biomarcadores utilizados foram: tamanho e o peso dos peixes, Fator de Condição, concentração de proteínas Metalotioneínas e atividade da enzima Acetilcolinesterase. Pesos e comprimentos médios, bem como concentração de Metalotioneínas, não apresentam diferenças estatísticas entre os grupos expostos e o grupo controle. O Fator de Condição calculado foi menor no grupo exposto durante 14 dias do que nos demais grupos. A atividade da enzima Acetilcolinesterase foi reduzida apenas em um dos grupos expostos, onde a exposição teve duração de 7 dias.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxicidade, biomarcadores, tratamento combinado, lixiviado.

#### INTRODUÇÃO

O tratamento combinado de lixiviado de aterro sanitário com esgoto doméstico em estação de tratamento de esgoto (ETE) vem sendo adotado em vários países como forma de reduzir os custos de operação do aterro, onde o custo de tratamento do lixiviado pode atingir valores bastante elevados, sobretudo por continuar a se fazer necessário mesmo após décadas de encerramento do aterro (Cossu, 1988; Ehrig, 1998; Facchin *et al.*, 2000; Martinen *et al.*, 2003; Paganini *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2005).

O tratamento combinado pode se constituir em alternativa para minimizar os efeitos deletérios do lixiviado, muitas vezes descartado sem qualquer tratamento, ao meio ambiente. São requisitos para o tratamento combinado: a viabilidade do transporte do lixiviado até a ETE, a capacidade da estação em assimilar esse efluente, a compatibilidade do processo com as características desse material e a possibilidade do manejo do provável aumento de produção de lodo na ETE.

Estudos mostram que a eficiência do tratamento combinado reside na determinação de faixas de cargas orgânica carbonácea e nitrogenada advindas do lixiviado a ser misturado com esgoto doméstico, em função da capacidade de tratamento das estações de tratamento de esgotos. Não existe um limite fixo para o percentual em volume de lixiviado a ser recebido em ETE de forma a não comprometer o tratamento. Alguns autores consideram o limite prático com sendo entre 10 e 20% em volume, enquanto outros trabalham com uma relação de até 2%, de forma a não implicar em má qualidade do efluente tratado (Boyle & Ham, 1974; Diamadopoulos *et al.* 1997; Ehrig, 1998; Facchin *et al.*, 2000; Borghi *et al.* 2001; Marttinen *et al.*, 2003).

Sabe-se, entretanto, que as técnicas de tratamento de efluentes comumente empregadas nem sempre asseguram que os efluentes tratados são desprovidos de toxicidade. O controle dos efluentes tratados utilizando apenas parâmetros físico-químicos globais que quantificam a presença de grupos de poluentes pode, muitas vezes, não ser suficiente para garantir que os efluentes não causarão efeitos tóxicos, de natureza aguda ou crônica, à biota aquática e à saúde humana (Rutherford *et al.*, 2000; Sisinnio, 2002).

Nesse sentido, a realização de bioensaios mostra-se ferramenta importante para o controle mais abrangente das fontes de poluição das águas. Os bioensaios são ensaios com organismos vivos, onde se busca identificar interações entre os poluentes presentes em efluentes e os organismos através da observação de indicadores biológicos, ou biomarcadores (Arias *et al.*, 2008 A; Arias *et al.*, 2008 B).

Os biomarcadores são capazes de detectar de forma precoce efeitos possíveis do efluente sobre os organismos vivos. Observando alterações de funções vitais ou de composição química nos organismos, é possível se conhecer efeitos da exposição a poluentes antes que danos letais possam ocorrer a esses organismos (Arias *et al.*, 2008 A; Arias *et al.*, 2008 B). Essas alterações podem ser bioquímicas, celulares, moleculares ou mudanças fisiológicas nas células, fluidos corpóreos, tecidos ou órgãos de um organismo.

Esse trabalho objetiva apresentar a avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado do lixiviado de um aterro de resíduos sólidos urbanos em uma estação de tratamento de esgotos em escala piloto em peixes do tipo Tilápia, utilizando como ferramenta biomarcadores indicativos de efeitos tóxicos sub-letais.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Peixes conhecidos como Tilápia foram expostos ao efluente tratado de uma estação de tratamento combinado de lixiviado e esgoto em escala piloto.

A escolha de Tilápias como organismos-teste para o estudo deveu-se a um conjunto de fatores, entre eles: são organismos existentes em grande parte dos corpos hídricos de água doce no território nacional, embora sejam exóticos, originários da África; apresentam grande importância comercial pois têm lugar expressivo entre os peixes de água doce cultivados para alimentação humana; são organismos com boa capacidade de adaptação a variações de qualidade de água, quando comparados com outros peixes cultivados; são capazes de se desenvolver em ampla faixa de acidez e alcalinidade na água (Santos *et al.*, 2009; Soares, 2003).

A estação de tratamento combinado em escala piloto foi implantada na área da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) Icaraí, localizada na cidade de Niterói (RJ). A estação piloto operou por processo de lodos ativados e foi projetada para tratar lixiviado de forma conjunta com esgoto doméstico em regime de aeração prolongada.

A estação de tratamento por lodos ativados em escala piloto era composta de reator aeróbio, operado com volume de 1150L, decantador e sistema de reciclo de lodo. A estação piloto operou com vazão média de 60L/h e tempo de detenção hidráulica variando entre 17h e 19h, com recirculação do lodo biológico.

A alimentação da estação de tratamento piloto foi feita com afluente captado dentro da caixa de areia da ETE Icaraí, contendo uma mistura de esgoto doméstico com lixiviado em proporções que variaram entre 0,5% a 1%. O lixiviado afluente à ETE Icaraí é proveniente do Aterro do Morro do Céu, também localizado em Niterói.

O Aterro do Morro do Céu está em operação desde 1983 e recebe atualmente em torno de 750 toneladas de resíduos sólidos por dia. A partir do final do ano de 2004, todo o lixiviado gerado no aterro, que antes era

descartado sem qualquer tratamento, passou a ser encaminhado para tratamento na Estação de Tratamento de Esgotos de Icarai (Ferreira *et al*, 2005).

Foi construído um aquário com capacidade de 1000L destinado a receber o efluente tratado da estação de tratamento combinado em escala piloto e abrigar os peixes a serem avaliados. A estação de tratamento piloto e o aquário podem ser visualizados na Figura 1.

Foram utilizados nos bioensaios peixes machos com peso em torno de 500g, adquiridos vivos em criadouro. Quatro compressores de ar de aquário realizaram a aeração na caixa d'água. Os peixes não receberam alimentação adicional, além do efluente tratado, durante os experimentos.



**Figura 1 – Estação de tratamento piloto e aquário construído para os ensaios de toxicidade.**

Foram realizados cinco experimentos de exposição dos peixes no aquário ao efluente tratado da estação piloto. O primeiro experimento teve 14 peixes expostos e duração de 7 dias. O segundo experimento teve 6 peixes expostos e duração de 7 dias. O terceiro, quarto e quinto experimentos tiveram 8 peixes expostos e duração de 14 dias. Todos os experimentos foram realizados entre outubro e dezembro de 2008. Os peixes controles, não submetidos à exposição e utilizados para comparação, totalizaram 25 unidades.

Nos experimentos primeiro ao quarto, a proporção da mistura de lixiviado na alimentação da estação piloto manteve-se entre 0,5% e 1%. No quinto experimento, a alimentação foi realizada com proporção em volume de lixiviado variando de 2% a 2,5%, tendo sido adicionado lixiviado ao afluente captado na ETE Icarai.

Em nível individual, foram contabilizados o tamanho e o peso dos peixes e calculado o Fator de Condição. O Fator de Condição se propõe a ser um indicador da condição geral da saúde dos indivíduos expostos. É calculado por uma relação entre peso e comprimento do organismo-teste, por meio da fórmula  $\text{peso} \times 100 / \text{tamanho}^3$  (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008). Esse fator considera se a disponibilidade de comida é limitada e/ou se o consumo de alimentos pelos organismos vivos está prejudicado devido a fatores estressores.

Em nível molecular, foram utilizados a concentração de Metalotioneínas, como biomarcador de exposição a metais pesados e a atividade da enzima Acetilcolinesterase, indicador de efeitos neurotóxicos decorrentes da exposição a agrotóxicos organofosforados e carbamatos.

Metalotioneínas são proteínas encontradas nos tecidos de animais e que possuem alta afinidade por íons metálicos do grupo IB e IIB da Tabela Periódica. Atuam na homeostase e na detoxicação de metais essenciais e não essenciais. A produção de metalotioneínas é induzida pelo aumento da entrada de metais nas células, o que

faz com que elas sejam biomarcadores específicos de exposição à contaminação por metais (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008). As avaliações de concentração de metalotioneínas foram realizadas em tecidos de fígado de peixes. A sua quantificação foi realizada com auxílio de um Polarógrafo, seguindo o Método de Brdicka (Raspor, 2001).

Acetilcolinesterase é a enzima responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina, que atua na transmissão de impulsos nervosos em diversos órgãos e músculos. A produção dessa enzima é inibida pela presença de agrotóxicos organofosforados e carbamatos (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008). As avaliações de inibição da enzima acetilcolinesterase foram realizadas em tecidos de músculo de peixes, onde a atividade específica da acetilcolinesterase (razão entre os valores de atividade enzimática e a concentração de proteínas na amostra) foi determinada com o uso de um espectrofotômetro, de acordo com os procedimentos indicados em Oliveira-Silva *et al.* (2000) e Ellman *et al.* (1961).

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Estudos em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da ENSP/FIOCRUZ.

Foram realizados testes estatísticos para comparações entre os dados amostrais obtidos nos monitoramentos realizados. O programa de análises estatísticas utilizado foi o Minitab 15.

## RESULTADOS

Cinco experimentos foram realizados com Tilápias expostas ao efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico da estação piloto de lodos ativados. Na primeira exposição, dos 14 peixes submetidos à exposição ao efluente tratado, 5 peixes sobreviveram pelo tempo de 7 dias. Na segunda exposição, todos os 6 peixes expostos sobreviveram por 7 dias. No terceiro, quarto e quinto experimentos, 4 dos 8 peixes expostos sobreviveram por 14 dias de exposição. Um resumo das condições de operação dos experimentos realizados é apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1 - Resumo das condições de operação dos experimentos de bioensaios.**

Experimento	% de Lixiviado no Afluente ao Tratamento	Duração da Exposição (dias)	Peixes Expostos	Peixes Sobreviventes
Exposição I	0,5 a 1%	7	14	5
Exposição II	0,5 a 1%	7	6	6
Exposição III	0,5 a 1%	14	8	4
Exposição IV	0,5 a 1%	14	8	4
Exposição V	2% a 2,5%	14	8	4

Os peixes que sobreviveram às exposições e os controles tiveram amostras biológicas coletadas de fígado e músculo para avaliação dos biomarcadores selecionados. Os peixes que morreram durante as exposições foram descartados, sem serem considerados nesse estudo.

O número significativo de peixes mortos nos experimentos realizados pode estar associado ao estresse sofrido pelos peixes durante o transporte entre o criadouro e o local de exposição. Outro fator possível de ter contribuído para as mortes é a disputa por espaço pelos peixes confinados no aquário. Como o foco do trabalho era a avaliação dos peixes vivos, não foram feitas análises no sentido de identificar sinais que pudessem indicar as causas das mortes dos peixes.

No período dos experimentos realizados, o pH no aquário manteve-se entre 6,3 e 7,0 e a concentração de oxigênio dissolvido, variando entre 4mg/L e 6mg/L. A temperatura da água no aquário variou entre 22°C e 24°C.

Todos os dados obtidos das exposições que operaram com a mesma faixa percentual de lixiviado na mistura de alimentação e mesmo tempo de exposição foram agrupados para avaliação. Dessa forma, os resultados foram reunidos em quatro grupos: Controle; Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 2 a 2,5% lixiviado.

Os resultados do monitoramento dos pesos, comprimentos e Fator de Condição dos peixes, para três dos grupos avaliados, são apresentados na Tabela 2. Não foram obtidos dados de monitoramento para o grupo Exposto 14 dias - 2 a 2,5% lixiviado.

Análises estatísticas permitiram inferir que os pesos e comprimentos médios não apresentam diferenças estatísticas entre os grupos. O Fator de Condição apresentou diferença estatística apenas para o grupo Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado, em relação aos demais. Esse grupo apresentou menor valor médio de Fator de Condição, o que pode estar associado ao estresse causado pelo efluente do tratamento combinado e também à deficiência de alimento em um período mais longo de exposição.

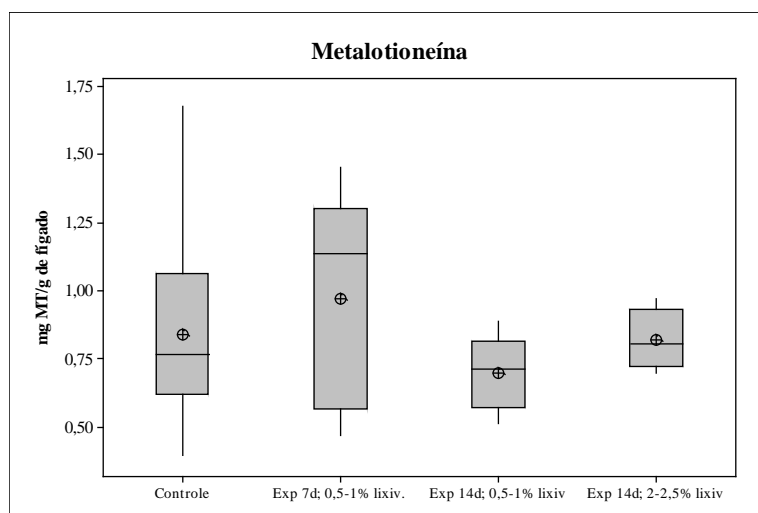
**Tabela 2 – Resultados para o monitoramento de peso, comprimento e fator de condição para os grupos avaliados.**

Grupo	N	Peso (g)		Comprimento (cm)		Fator de Condição (g/cm <sup>3</sup> )	
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio
Controle	27	457,4	62,0	28,8	1,2	1,91	0,22
Exposto 7 dias; 0,5 a 1% lixiv.	11	431,8	77,3	27,6	1,5	2,03	0,18
Exposto 14 dias; 0,5 a 1% lixiv.	8	414,7	70,3	29,6	2,5	1,62	0,26

OBS. N = número de indivíduos avaliados.

A distribuição dos resultados das concentrações de Metalotioneínas avaliadas em tecidos de fígado de peixes está apresentada na Figura 2. Testes de análise de variância permitem inferir que não há evidência estatística para afirmar que as médias amostrais dos quatro grupos avaliados são diferentes. Os testes indicam que a concentração média de Metalotioneínas por peso de fígado é estatisticamente igual nos grupos Controle; Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 2 a 2,5% lixiviado.

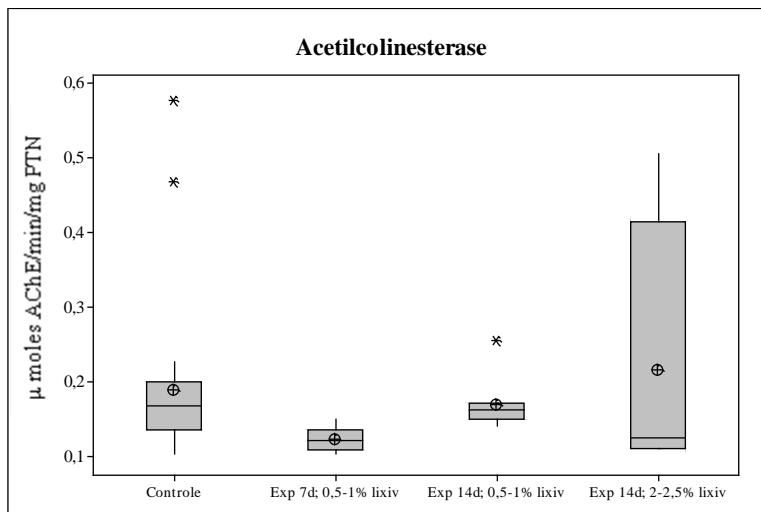
Uma vez que as concentrações dessas proteínas no fígado dos peixes controles e expostos, em concentrações de lixiviados diferentes, não apresentaram diferenças estatísticas, é possível supor que o lixiviado e o esgoto não contribuíram com concentrações significativas de metais a ponto de aumentar a produção de Metalotioneínas nos organismos expostos. Caso as concentrações de Metalotioneínas se mostrassem maiores nos peixes expostos, isso seria uma evidência de que os peixes estariam produzindo mais quantidade dessa proteína para detoxificar os metais advindos dos esgotos e do lixiviado.



**Figura 2 – Representação gráfica da distribuição dos resultados de concentração de Metalotioneínas para os grupos avaliados.**

A distribuição dos resultados da atividade da enzima Acetilcolinesterase em tecidos de músculo de Tilápias para os quatro grupos avaliados está representada na Figura 3. Os valores encontrados para as médias amostrais dos

grupos Controle, Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado e Exposto 14 dias - 2 a 2,5% lixiviado não apresentam evidência estatística de serem diferentes.



**Figura 3 – Representação gráfica da distribuição dos resultados de atividade de Acetilcolinesterase para os grupos avaliados.**

O único grupo que apresentou média amostral significativamente diferente foi o Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado, onde o valor da atividade da enzima Acetilcolinesterase foi menor do que nos demais grupos. Uma possível justificativa para o grupo exposto que combina menor tempo de exposição e menor concentração de lixiviado apresentar menor atividade da enzima passa pela existência de maiores concentrações dos agentes inibidores de Acetilcolinesterase no efluente do tratamento combinado.

Maiores concentrações de agrotóxicos organofosforados e/ou carbamatos no efluente tratado podem estar associadas à variação na composição do lixiviado ou do esgoto durante o período de exposição, induzida por algum descarte temporário desses poluentes na rede de esgotos ou no aterro de resíduos.

A utilização de agrotóxicos, embora esteja muito associada a áreas agrícolas, também acontece em áreas urbanas. Compostos organofosforados e carbamatos estão na base da formulação de inseticidas e praguicidas, utilizados no controle de vetores e pragas urbanas, como Malation, Clorpirifós e Triclorfon (organofosforados) e Carbaril e Dioxacarb (carbamatos) (FEEMA, 1997). Dessa forma, a poluição dos corpos hídricos por agrotóxicos acontece em áreas agrícolas e urbanas, devido à lixiviação do solo e aos efluentes descartados por essas atividades.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de lixiviado de aterros de resíduo sólidos urbanos combinado com esgoto doméstico pode ser uma alternativa importante para a minimização dos impactos causados pelos locais de disposição final de resíduos. Entretanto, para que essa alternativa de tratamento seja considerada realmente adequada é preciso avaliar os impactos do efluente do tratamento combinado nos ecossistemas. Ensaio de ecotoxicidade crônica permitem conhecer os impactos do efluente nos organismos após longos períodos de exposição, como ocorre no ambiente.

A despeito da sua importância, ensaios de ecotoxicidade crônica não são comumente utilizados no monitoramento de atividades de saneamento. Faz-se necessário o desenvolvimento e a consolidação de técnicas de uso de biomarcadores que possam identificar de forma precoce danos aos organismos, causados por misturas complexas de poluentes, antes de sua morte.

O uso de conjuntos de biomarcadores, com especificidades para identificação de danos associados a poluentes distintos, mostra-se importante para minimizar possíveis erros de interpretação decorrentes do uso de apenas um indicador e para possibilitar uma avaliação mais ampla de danos sub-letais presentes em organismos expostos a fontes de poluição.

A continuidade desse estudo prevê a avaliação de biomarcadores associados a outros grupos de poluentes. Entre eles, concentração de metabólitos de HPA's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) na bile dos peixes, indicador de exposição à HPA's, e contagem de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares, como indicativos de danos ao material genético das células, representando efeitos genotóxicos aos organismos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FINEP, à Caixa Econômica Federal e ao CNPq pelo apoio financeiro; à CLIN e à Águas de Niterói pelos dados fornecidos e suporte operacional; à equipe do Laboratório de Ecotoxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ pela realização dos ensaios. Esse estudo foi desenvolvido no escopo de um projeto de pesquisa integrante do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB 5.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARIAS, A. R. L.; INÁCIO, A. F.; NOVO, L. A.; VIANA, T. A. P.; ALBUQUERQUE, C. Utilização de Biomarcadores como Ferramenta de Monitoramento e Avaliação Ambiental: O Caso de Recursos Hídricos. *Mundo e Vida*, v.6, p. 34 – 41, 2005.
2. ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; NOVO, L. A.; ALBUQUERQUE, C.; MOREIRA, J. C. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraíba do Sul. *Environmental Pollution*, v. 156, p. 974-979, 2008 A.
3. ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; ALBUQUERQUE, C.; FREIRE, M. M.; MOREIRA, J. C. Biomarkers in an invasive fish species, *Oreochromis niloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Science of the Total Environment*, v. 399, p. 186-192, 2008 B.
4. BORGHI *et al.* Combined Treatment of a Mixture of Old and Young Leachates with Wastewater by Activated Sludge System. In: *Proceedings of Sardinia – Eighth International Waste Management and Landfill Symposium*, 2001, S. Margherita di Pula. Cagliari (Italy): CISA – Environmental Sanitary Engineering Centre, 2001.
5. BOYLE, W.C.; HAM, R.K. Biological Treatability of Landfill Leachate. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v. 46, n. 5, p. 860 - 873, 1974.
6. COSSU, R. Ingegneria Ambientale, v. 11, p. 564, 1982 *apud* LEMA, J.M.; MENDEZ, R.; BLAZQUEZ, R. Characteristics of Landfill Leachates and Alternatives for Their Treatment: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.40, p.223-250, 1988.
7. DIAMADOPOULOS, E. *et al.* Combined Treatment of Landfill Leachate and Domestic Sewage in a Sequencing Batch Reactor. *Water Science & Technology*, v. 36, p. 61-68, 1997.
8. EHRIG, H. J. Co-treatment in Domestic Sewage Facilities. In: *Proceedings of International Training Seminar: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate*, 1998, Venice, p. XI-1 a XI-10. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.
9. ELMANN, G. L.; COURTNEY, K.; ANDRES, JR A.; FEATHERSTONE, R. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology*, v.7, p. 89-95, 1961.
10. FACCHIN, J. M. J. *et al.* Avaliação do Tratamento Combinado de Esgoto e Lixiviado de Aterro Sanitário na ETE LAMI (Porto Alegre) após o Primeiro Ano de Operação. In: *Anais do 27º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2000, Porto Alegre. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.
11. FEEMA. NT-1005.R-21, aprovada pela Deliberação CECA nº 3.622, de 24 de abril de 1997. Praguicidas e suas concentrações permitas para utilização em serviços de controle de vetores e pragas urbanas. *Diário Oficial [do Estado do Rio de Janeiro]*, Rio de Janeiro, 12 de maio de 1997.
12. FERREIRA, J. A. *et al.* Plano de Gestão do Encerramento do Aterro do Morro do Céu em Niterói (RJ). In: *Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2005, Campo Grande. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.
13. FREIRE, M.M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I.S.F.; ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na Avaliação da Saúde Ambiental dos Ecossistemas Aquáticos. *Oecol. Bras.*, v. 12 (3), p. 347-354, 2008.

14. MARTTINEN, S. K., KETTUNEN, R. H., RINTALA, J. A. Occurrence and Removal of Organic Pollutants in Sewages and Landfill Leachates. *The Science of the Total Environmental*, p. 1-12, v. 301, 2003.
15. OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; INÁCIO, A. F.; MEYER, A.; SARCINELLI, P. N.; FERREIRA, M. F.; CUNHA, J. C.; MOREIRA, J. C. Cholinesterase Activities Determination in Froozen Blood Samples: an Improvement to the Occupational Monitoring in Developing Countries. *Hum. Exp. Toxicol.*, v.19, p. 173-177, 2000.
16. PAGANINI, W.S.; BOCCHIGLIERI, M.M.; LOPES, G.F. Avaliação da Capacidade das Estações de Tratamento de Esgotos do Sistema Integrado da Região Metropolitana de São Paulo – RMSP – para o Recebimento do Chorume Produzido nos Aterros Sanitários da Região. In: Anais do 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003, Joinville. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003.
17. RASPOR, B. Elucidation of the Mechanism of the Brdička Reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 503, p. 159–162, 2001.
18. RUTHERFORD, L. A., MATTHEWS, S. L., DOE, K. G., JULIEN, G. R. L. Aquatic Toxicity and Environmental Impact of Leachate Discharges from a Municipal Landfill. *Water Qual. Res. J. Canada*, p. 39–57, v. 35, 2000.
19. SANTOS, E.S.; NETO, M.F.; MOTA, S.; SANTOS, A.B.; AQUINO, M.D. Cultivo de Tilápia do Nilo em Esgoto Doméstico. *Revista DAE*, v. 180, p. 4-11, 2009.
20. SISINNO, C. L. S. *Destino dos Resíduos Sólidos Urbanos e Industriais no Estado do Rio de Janeiro: Avaliação da Toxicidade dos Resíduos e suas Implicações para o Ambiente e para a Saúde Humana*. Tese de Doutorado. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2002.
21. SOARES, C. *Análise das Implicações Sociais, Econômicas e Ambientais Relacionadas ao Uso da Piscicultura - O Caso Fazenda Princesa do Sertão - Palhoça/Sc*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.