

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Andreli Lopes Piccoli

**EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE LIXIVIADO DE ATERRO
SANITÁRIO BRUTO E TRATADO POR DESTILAÇÃO EM *Eisenia
andrei***

Santa Maria, RS
2023

Andreli Lopes Piccoli

**EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO
BRUTO E TRATADO POR DESTILAÇÃO EM *Eisenia andrei***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bárbara Estevão Clasen
Coorientadora: Dr.^a Siara Silvestri

Santa Maria, RS
2023

Andreli Lopes Piccoli

**EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE LIXIVIADO DE ATERRO
SANITÁRIO BRUTO E TRATADO POR DESTILAÇÃO EM *Eisenia
andrei***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

Aprovado em 30 de maio de 2023.

Bárbara Estevão Clasen, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Siara Silvestri, Dra. (UFSM)
(Coorientadora)

Aline Monique Blank do Amaral, Dra. (UNIPAMPA)

Ramiro Pereira Bisognin, Dr. (UERGS)

Santa Maria, RS
2023

Ao meu amado e esperado filho, Luís!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me abençoado em cada desafio vencido.

Ao André Azevedo Machado, meu companheiro nesta jornada e que foi minha força muitas vezes. Obrigado por todo apoio e incentivo, e por ter entendido os momentos que não consegui estar ao seu lado fisicamente. Amo você e nossa família junto ao Luís e ao Bacon.

Aos meus pais, Irani Piccoli e Ondina Lopes Piccoli, que sempre apoiaram minhas escolhas e ajudaram a custear meus estudos. Meu amor incondicional e minha eterna gratidão aos avós do Luís e meus melhores amigos.

À minha irmã Bruna Lopes Piccoli, meu maior exemplo de ser humano, que tem as palavras certas de consolo e guiou os meus passos desde que nasci. Sou grata a Deus pela sorte de ter tua vida junto da minha.

Aos meus amigos, Juliana Feijó, Herique Rech e Rejane Carginin, que abriram seus lares para mim durante o mestrado e foram ouvintes, conselheiros e parceiros no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pelo ensino de qualidade, ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAmb) e a todos professores que contribuíram para a minha formação. E a CAPES pelo incentivo financeiro.

As minhas colegas do PPGEAmb (Liliana, Tamiris e Gabriela) por terem apoiado no desenvolvimento desta pesquisa. Agradecimento especial a Luise Ropke que ajudou em todo o experimento de forma comprometida e alegre, deixando tudo mais leve.

A minha orientadora Bárbara Clasen e coorientadora Siara Silvestri por orientarem o desenvolvimento deste trabalho e cobrarem para que fosse desenvolvido com qualidade. Agradeço ao pesquisador Natielo Santana que me orientou em todo o experimento com as minhocas, passando seu conhecimento e experiência. E agradeço as contribuições da banca examinadora que enriqueceram este trabalho.

Aos colaboradores dos Laboratórios do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental pelo apoio na pesquisa. À professora Vania L. Loro e todos os colegas do Laboratório de Toxicologia Aquática (LabTAq) por terem aberto as portas para o desenvolvimento das análises bioquímicas. Ao professor Renato Zanella do Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) pelas análises concedidas.

Enfim, gratidão a cada um que contribuiu no desenvolvimento desta pesquisa,
muito obrigada!

RESUMO

EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO BRUTO E TRATADO POR DESTILAÇÃO EM *Eisenia andrei*

AUTOR: Andreli Lopes Piccoli
ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a Bárbara Estevão Clasen
COORIENTADORA: Dr.^a Siara Silvestri

O lixiviado de aterro sanitário é altamente contaminante, apresentando grandes concentrações de metais pesados e substâncias tóxicas. No Brasil, este efluente deve atender os padrões e condições de lançamento de efluentes presentes na Resolução nº 430 do CONAMA/2011 e no âmbito estadual a Resolução nº 355 da CONSEMA/2017. Porém, o tratamento do lixiviado é complexo e demanda a utilização de diversos métodos de tratamento para obter um lixiviado que possa ser descarregado em corpos d'água. A destilação é um método que pode ser empregado no tratamento do lixiviado ao usar fontes de calor alternativas, como o uso do biogás ou energia solar, e já mostrou eficácia na remoção de cor, turbidez e DQO do lixiviado bruto. Ensaios ecotoxicológicos são adequados para verificar os efeitos que o efluente pós tratamento causa em organismos bioindicadores. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar se o método de destilação reduz o potencial tóxico do lixiviado de um aterro sanitário utilizando a minhoca *Eisenia andrei* como organismo teste, representando o ambiente terrestre suscetível a contaminação com lixiviado. O lixiviado bruto foi coletado de lagoas de armazenado no aterro sanitário de Santa Maria, Rio Grande do Sul e o lixiviado foi tratado em um esquema da destilação simples montado em bancada. O experimento com conduzido expondo 10 minhocas em recipientes com solo contendo dois tipos de lixiviado, bruto e tratado, em triplicata, e em quatro doses: 0,0% (controle), 0,1%; 0,15%; 0,25% e 0,35% (v/v). Aos 7, 14 e 28 dias de exposição foram coletados 3, 3 e 4 minhocas, respectivamente, para posteriormente ser realizado análises bioquímicas. Os resultados deste estudo mostram que o método de destilação simples diminuiu a concentração e diversidade de fármacos e metais do lixiviado bruto, e atingiu os padrões de lançamento nos âmbito nacional e estadual para Cu, Zn, Fe e Mn. Nas concentrações com lixiviado bruto não houve alterações significativas na atividade GST e AChE, e só ocorreu alterações nas concentrações com lixiviado tratado. O mesmo ocorreu com o nível de peróxido de hidrogênio. Acredita-se que o método de destilação simples diminuiu a toxicidade do lixiviado bruto ao diminuir ou alterar características do lixiviado bruto. Os níveis de peroxidação lipídica nas concentrações com lixiviado bruto evidenciaram que houve dano oxidativo nas minhocas não contidos pelos mecanismos de defesa da enzima GST. Nas concentrações com lixiviado tratado ocorreram o efeito de hormeses, aumento a atividade da GST a AChE na menor concentração e diminuindo a atividade a medida que aumentava a concentração. Conclui-se que o método de destilação simples é eficaz no tratamento com lixiviado, mas deve ser associado a outros métodos de tratamento, pois não foi capaz de evitar efeitos na minhoca *Eisenia andrei*.

Palavras-chave: Aterros sanitários. Tratamento térmico. Biomarcadores.

ABSTRACT

ECOTOXICOLOGICAL EFFECTS OF RAW AND DISTILLATION-TREATED LANDFILL LEACHATE ON *Eisenia andrei*

AUTHOR: Andreli Lopes Piccoli
ADVISOR: Prof.^a Dr.^a Bárbara Estevão Clasen
COADVISOR: Dr.^a Siara Silvestri

Sanitary landfill leachate is highly polluting, with high concentrations of heavy metals and toxic substances. In Brazil, this effluent must meet the standards and conditions for releasing effluents present in Resolution n° 430 of CONAMA/2011 and, at the state level, Resolution n° 355 of CONSEMA/2017. However, leachate treatment is complex and requires the use of several treatment methods to obtain a leachate that can be discharged into water bodies. Distillation is a method that can be used to treat the leachate using alternative heat sources, such as the use of biogas or solar energy, and has already shown effectiveness in removing color, turbidity and COD from the raw leachate. Ecotoxicological tests are adequate to verify the effects that the post-treatment effluent causes on bioindicator organisms. Therefore, this study aims to investigate whether the distillation method reduces the toxic potential of leachate from a landfill using the earthworm *Eisenia andrei* as a test organism, representing the terrestrial environment susceptible to contamination with leachate. The raw leachate was collected from storage ponds at the landfill in Santa Maria, Rio Grande do Sul and the leachate was treated in a bench-mounted simple distillation scheme. The experiment was conducted by exposing 10 earthworms in containers with soil containing two types of leachate, raw and treated, in triplicate, and in four doses: 0.0% (control), 0.1%; 0.15%; 0.25% and 0.35% (v/v). At 7, 14 and 28 days of exposure, 3, 3 and 4 earthworms were collected, respectively, for later biochemical analysis. The results of this study show that the simple distillation method decreased the concentration and diversity of drugs and metals in the crude leachate, and reached national and student release standards for Cu, Zn, Fe and Mn. In the concentrations with crude leachate, there were no significant alterations in the activity of GST and AChE, and only alterations occurred in the concentrations with treated leachate. The same occurred with the level of hydrogen peroxide. It is believed that the simple distillation method decreased the toxicity of the raw leachate by decreasing or changing characteristics of the raw leachate. The levels of lipid peroxidation in the concentrations with crude leachate showed that there was oxidative damage in the earthworms not contained by the defense mechanisms of the GST enzyme. In the concentrations with treated leachate, the effect of hormesis occurred, increasing the activity of GST to AChE at the lowest concentration and decreasing the activity as the concentration increased. It is concluded that the simple distillation method is effective in the treatment with leachate, but it must be associated with other treatment methods, as it was not able to avoid effects on the earthworm *Eisenia andrei*.

Keywords: Landfills. Heat Treatment. Biomarkers.

LISTA DE SIGLAS

ACHÉ	Acetilcolinesterase
B	Lixiviado Bruto
CAT	Catalase
CC	Capacidade de Campo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTC	Capacidade de Troca de Cátions
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GST	Glutathione S-transferase
LEMA	Laboratório de Engenharia do Meio Ambiente
N-NH ₃	Nitrogênio Amoniaco
NPSH	Níveis de tióis não proteicos
NKT	Nitrogênio Kjeldahl Total
PNRS	Política Nacional dos Resíduos Sólidos
POAs	Processos Oxidativos Avançados
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SST	Sólidos Suspensos Totais
T	Lixiviado Tratado
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1	ATERRO SANITÁRIO.....	16
3.1.1	Composição e Características do Lixiviado.....	18
3.2	TRATAMENTOS EMPREGADOS NO TRATAMENTO DE LIXIVIADO DE ATERROS SANITÁRIOS.....	20
3.2.1	Processos Biológicos.....	21
3.2.2	Processos Físico-químicos.....	23
3.2.3	Processo Térmicos.....	26
3.3	ECOTOXICOLOGIA.....	27
3.3.1	Efeitos do lixiviado no ambiente terrestre.....	28
3.4	BIOINDICADORES.....	30
3.4.1	Efeitos ecotoxicológicos do lixiviado no Bioindicador <i>Eisenia andrei</i>.....	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1	ÁREA DE ESTUDO E EFLUENTE DA PESQUISA.....	34
4.2	DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES.....	34
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	35
4.3.1	Ensaio de destilação.....	35
4.3.2	Características do Solo.....	36
4.3.3	Organismo Teste.....	37
4.3.4	Experimento.....	37
4.4	ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	38

4.6	CRITÉRIOS UTILIZADOS PARA AVALIAR AS RESPOSTAS DOS BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	40
5	RESULTADOS.....	41
5.1	CONTAMINANTES DETECTADOS EM LIXIVIADO BRUTO E LIXIVIADO TRATADO.....	41
5.2	BIOMARCADORES DE TOXICIDADE em <i>Eisenia andrei</i>	42
5.2.1	Atividade da enzima GST.....	42
5.2.2	Atividade da enzima AChE.....	43
5.2.3	Níveis de peróxido de hidrogênio.....	45
5.2.4	Níveis de peroxidação lipídica através de TBARS.....	46
5.2.5	Níveis de tióis não proteicos (NPSH).....	48
6	DISCUSSÃO.....	49
7	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A geração de resíduos sólidos em volume expressivo é provocado principalmente pelo aumento do consumismo estimulado pelo modo de vida atual humana, que é consequência do avanço das tecnologias. No Brasil há uma geração de aproximadamente 82 milhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos (RSU) por ano (ABRELPE, 2022). A destinação ou tratamento incorretos de resíduos sólidos proporciona um cenário de disseminação de vetores, emissão de substâncias tóxicas e poluentes e a contaminação do ambiente (KJELDSEN et al., 2002).

A gestão dos RSU deve aliar o aumento da geração de resíduos com práticas econômicas e seguras para o ambiente, desde a geração até sua destinação final (LUO et al., 2020). Os aterros sanitários são uma alternativa atrativa para o tratamento de RSU, por ter baixo custo comparado a outros métodos. Além disso, quando projetados e/ou operados adequadamente, são considerados um método seguro de descarte de resíduos sólidos urbanos (ADAMCOVÁ et al., 2016).

Um dos grandes desafios do tratamento de resíduos através de aterros sanitários é o quantitativo de lixiviado gerados, pois este líquido de composição complexa e variável, apresenta risco potencial de poluição para os ecossistemas e saúde da fauna, flora e população (AZIZ et al., 2004; AKINBILE; YUSOFF; ZUKI, 2012; MOJIRI; AZIZ; AZIZ, 2013). Se falhas no tratamento ou monitoramento do aterro sanitário ocorrerem e o lixiviado atingir o solo, de acordo com He et al. (2018), forma-se uma zona de contaminação gradual ao redor do aterro, à medida que há a decomposição dos resíduos e penetração da água da chuva. O solo tem sua importância como fonte de água e nutrientes para a fauna e a flora, e quando ocorre contaminação, pode alterar e comprometer a sua qualidade, afetando todos que dependem deste ambiente (SANCHEZ-HERNANDEZ, 2006). Desta forma, é necessário manter os cuidados operacionais para que o lixiviado não atinja o solo, realizar a constante captação deste efluente e conduzi-lo ao tratamento adequado antes de ser despejado em corpos hídricos. No Brasil, o lixiviado tratado deve atender as condições e padrões de lançamentos determinados pela Resolução CONAMA nº 430 de

2011 (BRASIL, 2011). E no Rio Grande do Sul deve atender a Resolução CONSEMA nº 355 de 2017 (RIO GRANDE DO SUL, 2017).

Entre os processos comumente empregados no tratamento do lixiviado, destacam-se os biológicos, físico-químicos e térmicos. O tratamento biológico é economicamente atrativo, porém não é eficaz em lixiviados de aterros maduros, pois os micro-organismos responsáveis pelo processo de tratamento apresentam capacidade limitada para degradar substâncias recalcitrantes (CASTILHOS et al., 2009). Já os tratamentos físico-químicos estão geralmente associados ao tratamento biológico, como uma forma de complementar e aumentar suas eficiências, porém estes ainda apresentam elevados custos operacionais e grande geração de lodo (LUO et al., 2020; WIJEKOON et al., 2022).

O tratamento térmico ainda é pouco difundido e estudado em pesquisas, entretanto, mostra-se eficiente e demanda a utilização de fonte de calor que pode ser proveniente de fontes alternativas, tais como o uso do biogás gerado no próprio aterro sanitário ou energia solar (SILVA, 2019). A destilação simples é um processo térmico e uma alternativa promissora e pode vir a substituir os atuais processos. A destilação simples consiste em uma separação de mistura dos diferentes componentes do lixiviado, que apresentam distintos pontos de ebulição (SILVA et al., 2015; ZELIC, 2017; SILVA, 2019), e deve ser associado a outros processos no tratamento, como processos físico-químicos e biológicos, pois pesquisas mostram que o mesmo não atinge eficiência em todos os parâmetros exigidos na legislação. Silva (2019) mostrou que a destilação simples é altamente eficiente na remoção da cor, turbidez e DQO do lixiviado bruto e que apresenta baixo volume de passivo resultante, uma borra que correspondia a 10% do volume inicial tratado.

Da Costa et al. (2018) apontam que o método de tratamento do lixiviado será eficaz se ocorrer a diminuição da toxicidade do lixiviado do aterro. Walker et al. (2005) descrevem que uma substância química causará dano quando provocar mudanças bioquímicas ou fisiológicas que afetem indivíduos em suas taxas de nascimento, crescimento ou mortalidade. Nesse sentido, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) é uma mudança bioquímica e pode ser uma resposta ao estresse que o contato com substâncias xenobióticas pode causar (BARATA et al., 2005; NOLETO et al., 2021). Ao

mesmo tempo, a glutathione S-transferase (GST) é uma enzima antioxidante produzida por organismos como defesa ao estresse oxidativo, enquanto a acetilcolinesterase (AChE) é um bioindicador de neurotoxicidade (HATTAB et al., 2020; RAMIRES et al., 2020). Por sua vez, os níveis de tiol não proteico (NPSH), níveis de peroxidação lipídica (através da técnica TBARS) e os níveis de peróxido de hidrogênio são indicadores de estresse oxidativo (ALMROTH et al., 2005; ŚLESÁK et al., 2007; OTITOLOJU; OLAGOKE, 2011).

Através da avaliação da toxicidade do lixiviado bruto e tratado em organismos bioindicadores, é possível determinar o potencial risco e dano deste contaminante e determinar se os métodos empregados no tratamento são eficazes. As minhocas têm se mostrado excelentes bioindicadores de contaminação do lixiviado em baixas concentrações, pois são sensíveis, fáceis de cultivar e manter e podem ser utilizadas na análise de inúmeros contaminantes (PEREIRA et al., 2020; SAGGIORO et al., 2019). As minhocas da espécie *Eisenia andrei* são bioindicadores para avaliar a qualidade do solo, pois apresentam ampla distribuição em diferentes tipos de solos, ciclo de vida curto e fácil capacidade de adaptação ambiental (AIRA; MONROY; DOMÍNGUEZ, 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, por meio de biomarcadores bioquímicos, a toxicidade do lixiviado de aterro sanitário após tratamento por destilação simples em minhocas *Eisenia andrei*, afim de validar esse método como um possível processo no tratamento ao lixiviado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

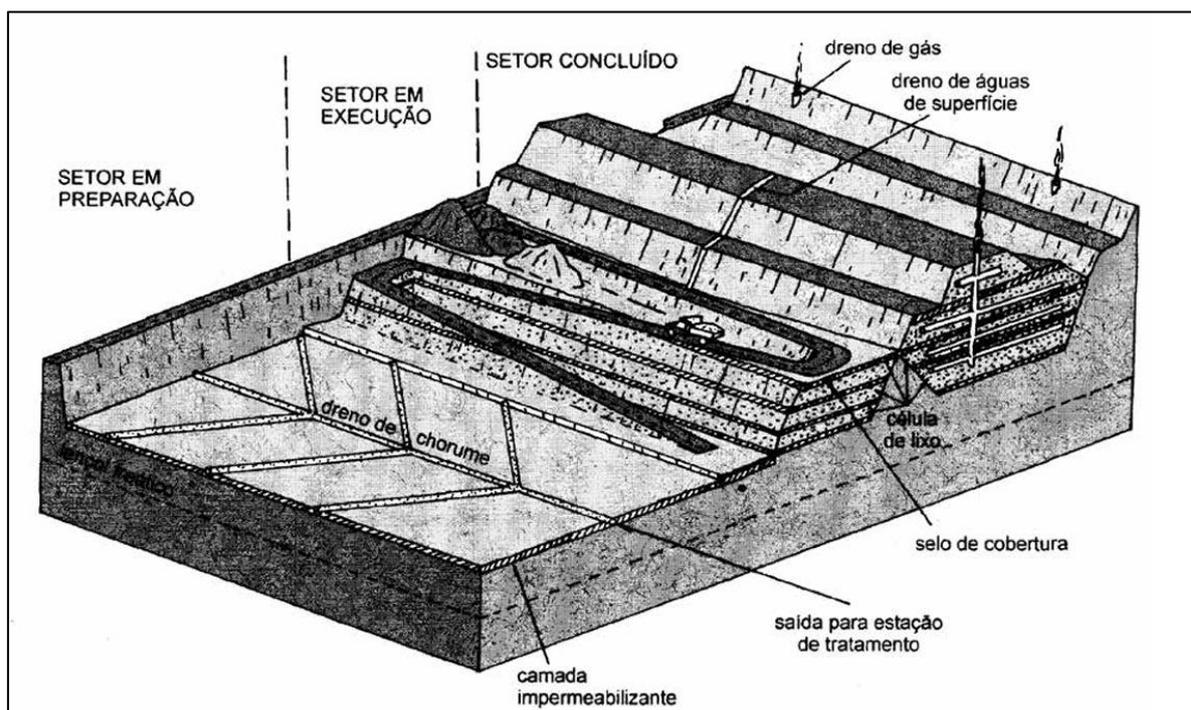
- a) Determinar a eficiência de remoção da toxicidade do lixiviado através do processo de destilação simples e da análise de metais, fármacos e agrotóxicos.
- b) Comparar os parâmetros do lixiviado tratado aos valores máximos da Resolução CONAMA nº 430/2011 e Resolução CONSEMA nº 355/2017.
- c) Avaliar as respostas do bioindicador *Eisenia andrei* expostos ao lixiviado bruto e tratado através de marcadores bioquímicos de toxicidade (glutathione S-transferase e acetilcolinesterase) e de estresse oxidativo (peroxidação lipídica, peróxidos de hidrogênio e níveis de tiol não proteico).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ATERRO SANITÁRIO

O aterro sanitário é o local onde ocorre a disposição, compactação e aterro de resíduos (VAVERKOVÁ, 2019), em um solo previamente impermeabilizado e apropriado. Durante a operação de um aterro é realizado a captação e o tratamento ambientalmente corretos dos passivos resultantes do tratamento dos resíduos: chorume, líquido resultante da decomposição dos materiais, e o biogás gerado nas reações da decomposição (KOERNER; SOONG, 2000; HUANG; FAN, 2016). A Figura 1 ilustra as etapas de tratamento de resíduos sólidos em um aterro sanitário.

Figura 1 – Etapas de caracterização e funcionamento do tratamento de resíduos em aterro sanitário.



Fonte: Vilhena (2018).

O aterro sanitário apresenta algumas características gerais em sua construção. Deve ser realizado a impermeabilização da base do aterro para evitar o contato entre o chorume e o solo, e que posteriormente pode atingir a água subterrânea através da percolação. Esta impermeabilização é realizada

com argila compactada e geomembrana (DOMINGUES; FERREIRA; PIRES, 2022). São instalados drenos no interior das células do aterro para a captação do biogás gerado, que posteriormente pode ser aproveitado como fonte de energia (XYDIS; NANAKI; KORONEOS, 2013). Na base do aterro é instalado um sistema de coleta de chorume em que o líquido é conduzido até um sistema adequado de tratamento, antes de ser descartado em um corpo hídrico (KOERNER; SOONG, 2000), atendendo os padrões de lançamento de legislações. Além disso, é necessário instalar no aterro um sistema de captação e drenagem de água da chuva, buscando escorrer a água por locais apropriados, diminuindo o volume de água infiltrada no aterro (ZHANG et al., 2013).

Comparado a outros meios de tratamento de resíduos urbanos (incineração e compostagem), o aterro mostra-se o mais economicamente viável, além de minimizar o impacto ambiental, pois é realizado sob condições controladas de preenchimento, permitindo que o processo de decomposição de resíduo aconteça até que sua eventual transformação ocorra (RENOU et al., 2008) e todo este processo deve ser monitorado por profissionais. Além disso, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), Lei 12.305/2010, recomenda a disposição final ambientalmente adequada de rejeitos em Aterros Sanitários. Esta lei apresenta, entre outros aspectos, diretrizes relativas à gestão integrada e ao gerenciamento de resíduos sólidos no Brasil (BRASIL, 2010). Aproximadamente 60% dos resíduos sólidos urbanos gerados no Brasil são destinados a aterros sanitários, segundo o Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil de 2020 (ABRELPE, 2020).

Todavia, o maior desafio relacionado ao aterro é o risco de contaminação do meio ambiente. O chorume misturado ao excesso da água da chuva forma o lixiviado e este infiltra-se por todas as camadas do aterro e pode atingir o solo e posteriormente as águas subterrâneas (KJELDSEN et al., 2002) se ocorrerem falhas construtivas na impermeabilização da base do aterro e sua coleta. Ololade et al., (2019) declaram que muitos aterros de países em desenvolvimento ainda são operados sem coleta e/ou sem as instalações adequadas para o tratamento do lixiviado. Quando não projetado ou operado corretamente, os aterros podem emitir gases voláteis na atmosfera e contaminarem águas e o solo pelo chorume, alterando os fatores biológicos e físico-químicos dos ecossistemas sob forma de poluição (IDOWU et al., 2019).

3.1.1 Composição e Características do Lixiviado

O efluente do aterro tem alto potencial poluidor, com uma composição complexa e variável. O lixiviado apresenta quatro componentes principais: (1) matéria orgânica dissolvida; (2) macrocomponentes inorgânicos como cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), sódio (Na^+), potássio (K^+), amônio (NH_4^+), ferro (Fe^{2+}), manganês (Mn^{2+}), cloreto (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}) e hidrogenocarbonato (HCO_3^-); (3) metais pesados como cádmio (Cd^{2+}), cromo (Cr^{3+}), cobre (Cu^{2+}), chumbo (Pb^{2+}), níquel (Ni^{2+}) e zinco (Zn^{2+}); e (4) compostos orgânicos xenobióticos como hidrocarbonetos aromáticos, fenóis, alifáticos clorados, pesticidas e plastificantes (KJELDEN et al., 2002; COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019).

Considerando que um aterro recebe constantemente resíduos sólidos em uma célula ao longo de sua altura e que os estágios de degradação variam com tempo, os resíduos encontra-se diferentes fases de decomposição no aterro (KJELDEN et al., 2002). Os fatores teor de umidade, acidez, temperatura, características do aterro e dos resíduos influenciam na sua degradação (SCHIOPU; GAVRILESCU, 2010).

As características do lixiviado também são afetadas por outros dois importantes fatores: a idade do aterro e precipitação (RENOU et al., 2008). Aterros mais jovens produzem lixiviado com alta presença de ácidos voláteis; já em aterros maduros a fração orgânica do lixiviado são húmicas e fúlvicas (KULIKOWSKA; KLIMIUK, 2008). A precipitação aumentará o volume do lixiviado, desta forma, é fundamental medidas de contenção para controlar o volume de água de precipitação que forma o lixiviado, para que o dimensionamento do tratamento não seja alterado. Entre as medidas de contenção destacam-se as camadas de impermeabilização, camadas de cobertura e sistemas de contenção e condução da água de precipitação (LUO et al., 2020).

A Figura 2 mostra o caminho do lixiviado desde sua geração até sua disposição final em um corpo hídrico, considerando suas características e riscos ambientais atrelados a sua composição quando o mesmo não recebe tratamento adequado. Os efeitos do lixiviado nos habitats podem ser controlados, porém são irreversíveis, BOZKURT; MORENO; NERETNIEKS (2000) declaram que a concentração do lixiviado que atinge o solo define seu potencial poluidor.

A caracterização do lixiviado determina o tratamento necessário para que o lixiviado atinja os padrões necessários para que se faça o seu despejo final em corpos hídricos. As características do lixiviado são representadas por parâmetros como demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a proporção DBO / DQO, potencial hidrogeniônico (pH), sólidos suspensos (SS), nitrogênio amoniacal (N-NH₃), Nitrogênio Total Kjeldahl (NKT) e metais pesados (RENOU et al., 2008). Sendo que DBO, DQO, SS, pH, N-NH₃ são parâmetros exigidos na legislação brasileira e estadual. Em nível nacional este efluente deve adequar-se ao artigo 16 da Resolução CONAMA, nº 430, de 13 de maio de 2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes no Brasil, enfatizando também que “o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de ecotoxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente” (BRASIL, 2011). Diferentes testes toxicológicos podem caracterizar o lixiviado, fornecendo informações sobre o conteúdo de poluentes que podem ser prejudiciais às classes de organismos (KJELDSEN et al., 2002). No âmbito estadual, o efluente deve adequar-se à Resolução CONSEMA nº 355/2017, que dispõe critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2017).

Figura 2 – Caminho do lixiviado em um aterro sanitário desde sua geração até sua disposição final.



Fonte: Autora (2023)

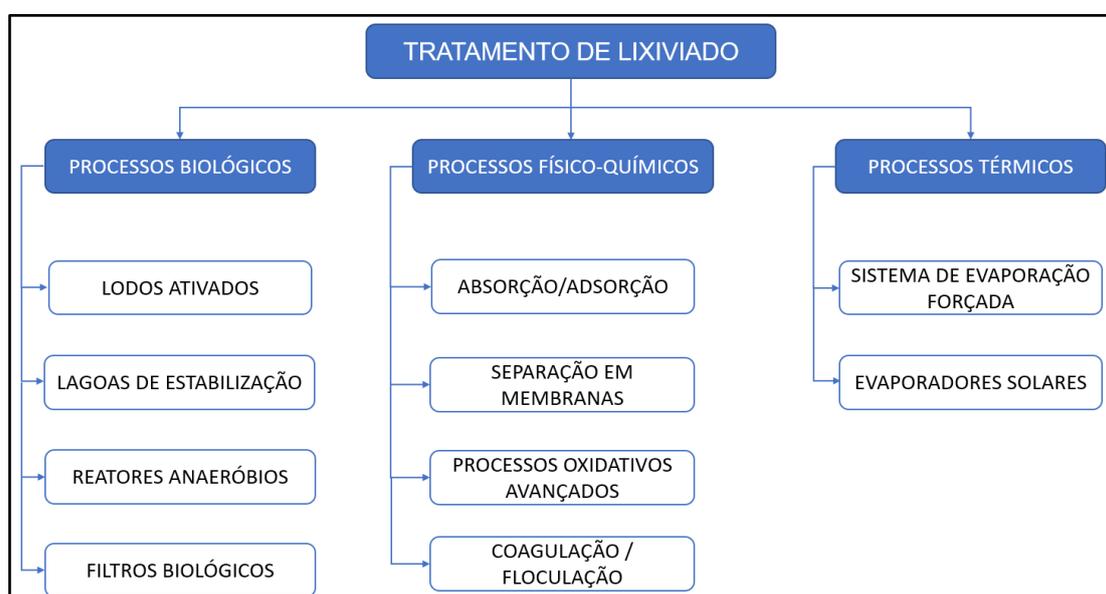
3.2 TRATAMENTOS EMPREGADOS NO TRATAMENTO DE LIXIVIADO DE ATERROS SANITÁRIOS

Povinelli e Sobrinho (2009) declaram que, no Brasil, um grande entrave ao tratamento do lixiviado é o uso das mesmas técnicas e, principalmente, os parâmetros de projetos utilizados para o tratamento de esgotos, mesmo sabendo que esses dois efluentes, lixiviados e esgotos, apresentam características distintas. As concentrações de DBO e DQO encontradas no lixiviado são 200 vezes maiores que as determinadas em esgotos sanitários, e as vazões são bem variáveis, pois o volume de lixiviado a ser tratado é diretamente influenciado pelos índices pluviométricos da região (CEMPRE E IPT, 2018). Destaca-se também a falta de disponibilidade de dados das empresas que gerenciam aterros sanitários sobre o lixiviado ao longo da vida útil, e a não exigência sobre esta disponibilidade pelo governo (COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019).

Silva (2019) adaptou de Metcalf e Eddy (2016) os processos comumente empregados no tratamento do lixiviado (Figura 3) e enfatizou que a escolha dos processos depende das características físico-químicas do lixiviado, idade de operação do aterro, características sazonais das regiões, custo-benefício, entre

outras. As estações de tratamento de lixiviado geralmente utilizam a combinação de dois ou mais processos no tratamento. As diversas alterações nas características físico-químicas do lixiviado e a sua complexa composição são os maiores desafios que uma estação enfrenta no tratamento do lixiviado (REIS, 2014). Busca-se, então atender a evolução dos padrões de lançamentos de efluentes em corpos hídricos, cada vez mais rigorosos (RENOU et al., 2008), que visam o menor impacto ao meio ambiente.

Figura 3 – Processos comumente empregados no tratamento do lixiviado em aterros sanitários no Brasil.



Fonte: Silva (2019) adaptado de Metcalf e Eddy (2016).

3.2.1 Processos Biológicos

Renou et al. (2008) declaram que o tratamento biológico é realizado através da degradação de compostos orgânicos por micro-organismos e é mais eficaz em lixiviados novos, com alta concentração de DBO e relação DBO/DQO maior que 0,5, ou seja, com alta biodegradabilidade. O tratamento também pode ocorrer pela interação de plantas, micro-organismos, água e atmosfera para remover contaminantes de um efluente (REHMAN et al., 2019), como é o caso dos filtros biológicos, *wetlands*, que dão suporte a diversas populações de bactérias, que são fundamentais na remoção de DBO₅ e oferecem condições para a sedimentação, adsorção, filtração e troca iônica (COTHREN et al., 2002).

Esta tecnologia é amplamente utilizada devido à sua simplicidade, confiabilidade e ótimo custo-benefício (RENOU et al., 2008). Os compostos são degradados em condições aeróbicas e anaeróbicas, dependendo da disponibilidade de oxigênio (LUO et al., 2020).

Porém, as estações que utilizaram o tratamento biológico para o tratamento do lixiviado apresentaram dificuldades operacionais, e alcançaram eficiências relativamente baixas em lixiviados maduros (CASTILHOS et al., 2009) que são extremamente recalcitrantes. Além disso, a dificuldade de biodegradação pode estar associada a ação tóxica de substâncias do lixiviado sobre os micro-organismos e a presença de compostos de elevada massa molecular, que apresentam estruturas complexas, como as substâncias húmicas (SILVA, 2014). O investimento em tecnologias avançadas está relacionado ao poder de compra das cidades/países, e desta forma, o baixo custo de operação e capacidade de investimento contribui para que a maioria dos aterros sanitários brasileiros ainda use os sistemas biológicos para o tratamento de lixiviado, onde destacam-se as técnicas como lodo ativado, sistema de lagoas, filtros biológicos e reatores anaeróbios (COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019).

Akinbile; Yusoff; Zuki (2012) desenvolveram, em escala piloto, o tratamento com *wetland* do lixiviado do aterro sanitário de Pulau Burung (Indonésia), utilizando a espécie de planta *Cyperus haspan* e apresentaram as seguintes remoções em um período de três semanas: 39,3-86,6% de turbidez, 63,5-86,6% de cor, 59,7-98,8% de SST, 39,2-91,8% de DQO, 60,8-78,7% de DBO₅, 29,8-53,8% de N-NH₃, 59,8-99,7% de fósforo total, 33,8-67,0% de nitrogênio total, 34,9-59,0% de Fe, 29,0-75,0% de Mg, 51,2–70,5% de Mn e 75,9–89,4% de Zn. Os resultados mostram a eficiência de tratamento do sistema, embora o padrão de lançamento não ser evidenciado no estudo. Klauck et al., (2017) realizaram análises físico-químicas do lixiviado bruto e tratado de um aterro sanitário do Vale do Sinos, localizado no sul do Brasil, que tem em seu tratamento o sistema biológico de lagoas. O estudo mostrou alto teor de DQO e alta concentração de compostos de nitrogênio (NTK, amoníaco e nitrato) no lixiviado bruto e que estes parâmetros estão presentes no lixiviado após o tratamento biológico. A DQO ficou dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, ao contrário do nitrogênio amoniacal e Kjeldahl total, mostrando, assim, a baixa eficiência do sistema.

No mesmo estudo de Klauck et al., (2017) foi realizado a avaliação de multiparâmetros de toxicidade em cebola *Allium cepa*, através do plantio da cebola em água, contendo o lixiviado bruto e tratado nas concentrações de 12,5%, 25% e 50% (v/v). Primeiramente realizou-se o experimento sobre a toxicidade aguda, que foi avaliada através da inibição do crescimento das raízes da planta, em comparação ao grupo controle (água destilada). Em seguida foi determinada a citotoxicidade através da análise de células em divisão e a genotoxicidade por aberrações cromossômicas. O estudo mostrou que as amostras de lixiviado após o tratamento biológico em lagoas não apresentaram toxicidade aguda e citotoxicidade, mas foram genotóxicas para a concentração de 25%. Este estudo mostra a ineficácia do tratamento do lixiviado por lagoas biológicas, pois, apesar de não ocorrer toxicidade aguda, a longo prazo torna-se genotóxico.

Há avaliações físico-químicas de lixiviado tratado por processo biológico na literatura (SONG et al., 2020; IMTINAN; PURWANTO; YULIANTO, 2020; YAN et al., 2021) a fim de provar sua eficiência. Porém, dados sobre os efeitos tóxicos do efluente em organismos, se o lixiviado não atingir os padrões necessários para despejos em corpos hídricos após tratamento são limitados. A Resolução CONAMA nº 430/2011 determina que os efeitos tóxicos em organismos devem ser baseados em resultados de ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo órgão ambiental, utilizando organismos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes (BRASIL, 2011). Os trabalhos desenvolvidos mostram que o baixo custo de operação torna o tratamento do lixiviado por processos biológicos atrativo, porém há uma baixa eficiência destes processos, que está diretamente relacionada à capacidade dos micro-organismos de degradar os complexos contaminantes presentes no lixiviado. Este cenário indica a necessidade de associação de outros processos de tratamento aos biológicos, por exemplo, de processos físico-químicos.

3.2.2 Processos Físico-químicos

Os processos físico-químicos são geralmente utilizados em combinação aos processos biológicos para melhorar sua eficiência, e/ou torná-los possíveis quando o processo de oxidação biológica é dificultado pela presença de

poluentes refratários no lixiviado (LUO et al., 2020). Os processos biológicos são úteis para diminuir a poluição de compostos orgânicos, mas não são eficazes na remoção de metais tóxicos e compostos químicos inorgânicos. Em contrapartida, os métodos físico-químicos não são apropriados no tratamento de lixiviado jovem com alto conteúdo orgânico (WIJEKOON et al., 2022). Desta forma, a associação destes dois tratamentos é eficiente na remoção de contaminantes do lixiviado, que apresentam características diferentes em função da idade do aterro. Entretanto, as técnicas físico-químicas têm como desvantagens a geração de lodo e o aumento de substâncias químicas na fase líquida do lixiviado, como ferro e alumínio (LUO et al., 2020), proporcionando custos de destinação deste passivo e na aquisição de reagentes.

Nos aterros sanitários brasileiros localizados em grandes metrópoles, houve investimentos no desenvolvimento de novas tecnologias de tratamento de lixiviado ao terceirizar o serviço, e utilização de processos físicos de separação em membranas (COSTA; ALFAIA; CAMPOS, 2019). Luo et al. (2020) definiram que as membranas são materiais que criam uma barreira fina que resiste, seletivamente, ao movimento de diferentes constituintes de um fluido, permitindo a separação de alguns dos constituintes do lixiviado. Renou et al. (2008) apontaram que os sistemas de membranas são aplicados na remoção de compostos orgânicos, inorgânicos e de metais, de forma eficiente em uma etapa adicional a processos convencionais físico-químicos e biológicos. Moravia (2010) conduziu um estudo de tratamento do lixiviado de um aterro sanitário de Belo Horizonte (Brasil) com processo de separação por membrana, submetendo primeiramente ao tratamento por Fenton, e obteve eficiência de remoção de cor de 99,6%, ST de 99,4%, DQO de 98,4%, NTK de 91,6%, fósforo total de 100% e alcalinidade de 100%. O autor evidencia a eficiência do sistema de membranas, como tratamento complementar do lixiviado, corroborando para o enquadramento do efluente a ser despejado em corpos hídricos, conforme exigido pela legislação vigente.

Processos Oxidativos Avançados (POAs) são processos físico-químicos que apresentam uma variedade de pesquisas empregadas no tratamento dos lixiviados, pois são altamente eficientes para destruir substâncias orgânicas de difícil degradação (MEDEIROS et al., 2010) ao melhorar sua biodegradabilidade através da geração de espécies altamente oxidantes, como o radical hidroxila

(•OH) (CAVALCANTI et al., 2013). Este radical apresenta baixa seletividade, oxidando a maioria dos poluentes orgânicos (DE MORAIS; ZAMORA, 2005). Porém, uma limitação dos POAs no tratamento dos lixiviados reside na possibilidade de formação de compostos indesejáveis, que apresentam uma maior capacidade tóxica que o efluente original (REIS, 2014). Além disso, os POAs ainda não são muito usados em razão do alto custo de instalação e operação.

Dentre os POAs, destaca-se o processo foto-Fenton que consiste no tratamento do lixiviado a partir da formação do •OH gerado na reação Fenton, que é a reação entre íons ferrosos (Fe^{2+}) e peróxido de hidrogênio H_2O_2 , em condições ácidas na presença de luz UV (LIMA, 2017). Medeiros et al. (2010) desenvolveram um experimento expondo microcrustáceos *Artemia salina* ao lixiviado de aterro tratado por processo foto-Fenton, através de um reator desenvolvido em escala de bancada, que resultou na morte destes organismos em concentrações a partir de 60% (v/v), indicando altos níveis de toxicidade. Além disso, os autores apontaram que, em relação ao tempo de tratamento, o reator de foto-Fenton não é eficaz para tempos iniciais, pois somente após 20 minutos de funcionamento do reator os níveis de mortalidade diminuíram (MEDEIROS et al., 2010). Em contrapartida, foi evidenciado a remoção completa da toxicidade do lixiviado de um aterro sanitário, localizado em Sabará, Minas Gerais, por Fenton associando a microfiltração e precedido do processo de *air stripping* para a remoção da amônia (REIS, 2014), um dos principais constituintes do lixiviado. Isto mostra que o processo de Fenton é eficiente para a remoção da toxicidade do lixiviado se associado a outros processos de tratamento.

Ainda que a literatura mostre a eficiência destes processos no tratamento do lixiviado, faltam estudos relacionados à remoção da sua toxicidade durante o tratamento. Os processos físico-químicos surgem como uma alternativa na busca de atingir eficiência na remoção de determinados parâmetros no tratamento do lixiviado, limitado pelos processos biológicos. Porém, a destinação do passivo resultante do tratamento, o lodo, torna os processos físico-químicos não atrativos economicamente. Uma alternativa neste entrave no tratamento do lixiviado são os processos térmicos, que estão tendo amplas pesquisas sobre sua eficiência.

3.2.3 Processo Térmicos

Os processos térmicos de tratamento de lixiviado consistem na separação de mistura a partir de uma fonte de calor. Assim, diferentes substâncias com diferentes pontos de ebulição separam-se do lixiviado a partir do aquecimento, ebulição e condensação dos constituintes deste efluente (SILVA et al., 2015; SILVA, 2019). A evaporação é um processo térmico onde ocorre a separação homogênea de substâncias líquidas. Quando pelo menos uma das substâncias da mistura homogênea for sólida, também ocorre sua separação através de destilação. A destilação só acontece se os diferentes componentes do lixiviado apresentarem pontos de ebulição distintos, ou seja, diferentes forças intermoleculares de cada componente (ZELIC, 2017).

Silva (2019) realizou ensaios de destilação de lixiviado, em escala de bancada, de dois aterros sanitários localizados em São Paulo, utilizando amostras de efluentes em pH natural de pH 8,47 e amostras com pH corrigidos para os valores pH = 7,0 e pH = 6,0. O autor obteve uma eficiência de remoção de 100 e 99,7% de turbidez e cor, respectivamente, e ainda houve a remoção de 98,53% da DQO. A eficiência de remoção destes parâmetros não teve interferência significativa em relação aos diferentes pHs das amostras, porém o efluente básico tratado apresentou alta concentração de amônia, enquanto o lixiviado tratado ácido apresentou menor concentração de amônia. Outro resultado obtido pelo autor foi o baixo volume de borra residual de todas as amostras, correspondente a apenas 10% do volume inicial de lixiviado. O estudo evidenciou alta eficiência dos parâmetros avaliados e baixo volume de passivo resultante, mostrando-se economicamente atrativo no tratamento do lixiviado e eficaz se associado a outros tratamentos, que possibilite eficiência aos demais parâmetros exigidos na legislação para a descarga de efluentes em corpos hídricos (SILVA, 2019)

Outro experimento, utilizando como fonte de calor a luz solar para destilação, teve como objetivo testar processos alternativos no tratamento do lixiviado de aterros sanitários de pequeno porte. Houve redução de aproximadamente 100% na turbidez, cor e sólidos totais; e os parâmetros DBO, DQO e coliformes estavam dentro dos padrões de lançamento da legislação brasileira (SÁ; JUCÁ;; SOBRINHO, 2014).

Zelic (2017) realizou destilação de lixiviado de aterro através de dois destiladores (Colunas de Pratos e Evaporador com Película Descendente a Vácuo). O objetivo do estudo foi atingir uma eficiência no tratamento e enquadrar o efluente tratado nos padrões da Resolução nº 430/2011 (BRASIL, 2011). Os destiladores removeram 99% de ST e resultaram em um destilado sem cor e turbidez de no máximo 1 NTU. Além disso, a remoção de DBO e DQO foi de 90% e do Carbono Orgânico Total chegou a 98%. Outro resultado interessante foi a massa de contaminante, a borra resultante que foi equivalente a no máximo 6,5% do volume inicial a ser tratado.

O processo de destilação tem baixa formação de passivo e mostra-se promissor no tratamento de lixiviado, principalmente na remoção de cor e turbidez, conforme evidenciado pela literatura. Apesar do processo necessitar de fonte de calor, alternativas sustentáveis, como a utilização da luz solar ou a queima do biogás gerado no próprio aterro sanitário, resolvem esta limitação do processo. Porém, a destilação precisa estar associada a outros processos de tratamento de lixiviado, a fim de atingir os demais parâmetros de lançamentos exigidos pela legislação brasileira. Além disso, há poucos estudos sobre efeitos toxicológicos do efluente tratado por destilação, necessitando então o desenvolvimento de pesquisas neste tema. Somente as análises físico-químicas não são capazes de avaliar como os contaminantes afetam os sistemas biológicos e o ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes (MEDEIROS et al., 2010).

3.3 ECOTOXICOLOGIA

Toxicologia é a ciência que estuda os efeitos adversos de substâncias químicas sobre organismos vivos, a fim de determinar a magnitude destes efeitos e os limites seguros do uso destas. Sisinnio; Oliveira-Filho (2013) definem ecotoxicologia como o ramo da toxicologia que determina os efeitos que substâncias químicas presentes no ambiente podem provocar em organismos vivos e na saúde humana, que são determinados a partir de estudos em laboratório e/ou a campo. As substâncias químicas causam danos ao meio ambiente quando encontradas acima de concentrações que determinados

ecossistemas poderão suportar, e desta forma provocam efeitos adversos ao ambiente e na biota que nele habitam.

Uma substância quando está presente no ambiente de forma não natural em uma dose que não causa danos ao ecossistema e aos organismos que nele vivem, é considerada um contaminante, quando este dano ocorrer, ou seja, a concentração presente não é tolerada pelo meio, esta substância torna-se um poluidor (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013) e assim apresenta toxicidade. Storck (2019) aponta que os contaminantes podem influenciar no potencial de toxicidade um do outro. Desta forma, avaliar o potencial tóxico de uma substância individualmente é limitado, pois a condição mais provável de contaminação no meio ambiente é a mistura de substâncias contaminantes. O conhecimento do potencial tóxico do lixiviado é essencial antes deste ser despejado em corpos hídricos, visto que, este poluente em altas concentrações pode individualmente ou em combinação com outras substâncias, levar a altos níveis de toxicidade (GHOSH; THAKUR; KAUSHIK, 2017).

A avaliação da toxicidade exige a escolha de um bioensaio para estimar os efeitos tóxicos dos compostos presentes nos lixiviado em bioindicadores (LUO et al., 2020). Os bioindicadores são organismos que vivem em determinado ecossistema e poderão ser afetados por substâncias com doses acima dos níveis naturais e/ou seguros. A complexidade atrelada ao lixiviado dificulta a determinação do potencial tóxico das substâncias através das técnicas de identificação físico-química, e com a utilização de bioindicadores poderá ser previsto o risco potencial destas misturas complexas de contaminantes do lixiviado (SCHIOPU; GAVRILESCU, 2010).

3.3.1 Efeitos do lixiviado no ambiente terrestre

O solo é a parte principal do sistema terrestre, pois controla os ciclos hidrológicos, erosivos, biológicos e geoquímicos (ADAMCOVÁ et al., 2016). Além disso, é a fonte de nutrientes para a fauna e a flora terrestre e se o solo estiver contaminado, compromete o cultivo de alimentos e de todas as formas de vida ali presentes (SALES JUNIOR et al., 2021; SANCHEZ-HERNANDEZ, 2006). A qualidade do solo ao redor do aterro é bastante impactada pelo escoamento superficial, pois contaminantes presentes nos resíduos são

transportados pela água da chuva e distribuídos sobre a camada próxima de solo, podendo ser adsorvido e estar disponível à produção agrícola ou consumida pela microbiota ali existente (OLOLADE et al., 2019). Além disso, a capacidade do lixiviado em atingir o lençol freático está atrelada ao tipo de solo e suas características. Solos mais argilosos terão maior capacidade de adsorver contaminantes, e menor será o efeito tóxico no ecossistema (McBRIDE, 1994; HUANG; HARTEMINK, 2020).

Uma característica que justifica a capacidade de um contaminante de atingir o solo e o lençol freático é a capacidade de troca de cátions (CTC). Quando um contaminante atinge um solo de textura arenosa, a CTC é menor que o solo de textura argilosa, pois a granulometria do solo argiloso é maior, sua estrutura apresenta uma macroporosidade maior, diminuindo desta forma a superfície de contato e a interação do poluente com as partículas (CETESB, 2023). Conseqüentemente, se o contaminante infiltrar no solo, ele pode atingir o lençol freático com mais facilidade em solo mais arenoso. Outra característica importante relacionada ao comportamento e capacidade de contaminação do solo é a sua Capacidade de Campo (CC), que representa o volume de água que fica retida no solo depois que o excesso de água seja drenado após uma chuva ou irrigação (VEIHMEYER; HENDRICKSON, 1949). As CTC e CC são características determinantes na capacidade do solo de conter determinando contaminante.

Os diversos metais pesados presentes no lixiviado determinam sua alta capacidade de contaminação, pois a não biodegradabilidade de metais pesados permite que os mesmos fiquem retidos no lixiviado e possam alcançar o solo e águas subterrâneas através da infiltração (IGHALO; ADENIYI, 2020). Em Akure, cidade localizada no estado de Ondô na Nigéria, foi observado a presença de metais pesados como zinco e chumbo em águas subterrâneas próximas a locais com depósito de lixo, inferindo que estes contaminantes eram de lixiviado de aterro (AKINBILE; YUSOFF., 2011). Adamcová et al. (2016) mostraram, ao analisar o solo próximo a um aterro sanitário da República Tcheca, que o teor dos metais pesados cobre, níquel e cromo excederam os limites estabelecidos nas legislações pertinentes. Kanmani; Gandhimathi (2013) também apontam a contaminação do solo por lixiviado de aterro ao detectarem a presença em elevado teor dos metais pesados chumbo, cobre, manganês e cádmio.

Desta forma, o vazamento do lixiviado contendo metais pesados poderá trazer impacto aos seres vivos presentes no solo, alterando sua qualidade e características, e ainda poderá prejudicar a saúde do ser humano, se os mesmos estiverem contato com alimentos contaminados (ARIBUDIMAN et al., 2019). Busca-se, então, um adequado tratamento ao lixiviado de aterro sanitário a fim de garantir o menor impacto sobre o meio ambiente e toda forma de vida nele existente (WIJEKOON et al., 2022).

3.4 BIOINDICADORES

Os bioindicadores são organismos que mostram as condições ambientais de um ambiente, ou seja, determina se o ambiente apresenta alguma modificação natural que altere o comportamento ou a saúde do organismo no meio. O organismo bioindicador deve apresentar uma significativa representação ecológica dentro do ecossistema a ser avaliado, para que mostre os efeitos nocivos de contaminantes (SILVA; POMPÊO; PAIVA, 2015). Além disso, é necessário ter conhecimento prévio sobre sua biologia, fisiologia, hábitos alimentares, sensibilidade e demais informações sobre a espécie (MAGALHÃES; FILHO, 2008). Com isso, será possível determinar o padrão de contaminação, a biodisponibilidade e a concentração letal do poluente (FERREIRA, 2015). Estas informações são necessárias para o desenvolvimento de experimentos de detecção de possível contaminação por substâncias químicas em ecossistemas e nos organismos que nele vivem, e dará subsídios para interpretação dos resultados obtidos durante os testes ecotoxicológicos.

A avaliação do potencial ecotoxicológico, em organismos bioindicadores, quando comparado o lixiviado bruto com o lixiviado tratado de aterro sanitário, determinará se o método de tratamento é eficaz (DA COSTA et al., 2018). Os efeitos que estas substâncias tóxicas podem causar em organismos depende da capacidade deste de lidar ou tolerar o aumento das concentrações dos compostos de diferentes origens (MONTVYDIENÉ et al., 2020). O lixiviado de aterro sanitário é considerado potencial contaminante do meio ambiente, exercendo significativo impacto negativo na estrutura da teia alimentar e, conseqüentemente, alterando o bom estado ecológico de um ecossistema (ZHANG et al., 2013).

3.4.1 Efeitos ecotoxicológicos do lixiviado no Bioindicador *Eisenia andrei*.

Sales Junior et al. (2021) analisaram a toxicidade do lixiviado não tratado de um aterro sanitário do Rio de Janeiro, através da exposição aguda e crônica em minhocas *Eisenia andrei* em um solo classificado como argiloso vermelho-amarelo. No teste agudo, os pesquisadores determinaram uma concentração letal média (CL₅₀) em 72 h de $1,3 \pm 0,1 \mu\text{L cm}^{-2}$ em um teste de contato com papel de filtro (método que consiste na aplicação de 1,0 mL de solução de lixiviado em 60 cm² de papel filtro e a exposição de uma minhoca) e $53,9 \pm 1,3 \text{ mL kg}^{-1}$ em solo natural em 14 dias. Os autores justificaram que a alta CL₅₀ no teste agudo em solo é responsável pela reatividade entre o contaminante e o solo com alto teor de argila, característica de um Argissolo vermelho-amarelo, causando uma diminuição da exposição do lixiviado às minhocas. Já no teste comportamental, houve uma perda de habitat na concentração de $87,5 \text{ mL kg}^{-1}$ de exposição ao lixiviado, em que a evasão foi maior que 80%. Durante a uma exposição crônica (56 dias) houve produção de casulo 4 vezes menor e 7 vezes menor em juvenis, e os autores apontam que a possível presença de compostos de desregulação endócrina pode ter contribuído para a menor produção. Ocorreram alterações morfológicas, classificadas como mutilação com perda de segmento em organismos expostos às concentrações acima de 35 mL kg^{-1} e acredita-se que este efeito aconteceu quando o tecido dérmico da minhoca teve contato direto com substâncias tóxicas (RAO; PAVAN; MADHAVENDRA, 2003; REDDY; RAO, 2008). Outra teoria seria que as minhocas acabaram eliminando seus segmentos como forma de desintoxicação, pois há concentração de material exógeno ou xenobióticos na parte final do seu aparelho digestivo (CSOKNYA et al., 2003; SOROLDONI et al., 2019).

As pesquisas sobre a exposição de lixiviado de aterro sanitário sobre bioindicadores que representam ecossistemas com potencial de contaminação por lixiviado, como minhoca *Eisenia andrei*, são limitadas e de suma importância na determinação do efeito de contaminantes em organismos que vivem nestes ambientes.

3.5 BIOMARCADORES

Os biomarcadores são as respostas que o bioindicador dará quando estiver exposto a substâncias tóxicas do ambiente, contribuindo de forma precoce na identificação dos efeitos da poluição (NOLETO et al., 2021). Os danos aos organismos serão detectados pelos ensaios biológicos, mudanças fisiológicas e/ou bioquímica, afetando a taxa de nascimento, crescimento ou mortalidade dos indivíduos expostos (GHOSH; THAKUR; KAUSHIK, 2017).

Uma das alterações bioquímicas em organismos expostos a contaminantes pode ser causada por uma produção desequilibrada de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BARATA et al., 2005). Esta condição pode afetar o funcionamento normal das células, gerando uma situação de estresse e danos oxidativos, causando alterações em nível de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (BARILLET et al., 2007). As EROs comumente produzidas são o superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH), e os organismos reagem ao estresse oxidativo através da produção de defesas oxidantes, que incluem enzimas, mecanismos e compostos metabólitos (BARATA et al., 2005).

Entre as enzimas antioxidantes produzidas pelos organismos bioindicadores destacam-se a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT). A atividade da enzima SOD é responsável por catalisar, no peroxissomos e na mitocôndria, a conversão de ânions superóxidos reativos ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (OTITOLOJU; OLAGOKE, 2011). Já a CAT apresenta duas funções, catalisar a decomposição de H_2O_2 para H_2O e O_2 e catalisar a oxidação de hidrogênios doadores, por exemplo, de metanol, etanol, ácido fórmico, fenóis, com o consumo de 1 mol de peróxido (AEBI, 1984).

Há enzimas biomarcadoras de toxicidade que podem ter suas atividades alteradas quando há exposição do organismo a contaminantes, destacando-se a glutathione S-transferase (GST) e acetilcolinesterase (AChE). A GST é uma enzima de desintoxicação de fase II e apresenta a capacidade de auxiliar na desintoxicação celular de organismos expostos a contaminantes (HATTAB et al., 2020). A GST atua na biotransformação de xenobióticos em compostos mais solúveis em água, facilitando a eliminação dos metabólitos da peroxidação

lipídica, minimizando danos ao DNA e protegendo células de estresse oxidativo (LÓPEZ; VALIÑAS; RIOL, 2002; HATTAB et al., 2020; CORREIA et al., 2021).

Já a enzima AChE é um importante bioindicador de neurotoxicidade, que desempenha uma função central no mecanismo de neurotransmissão, uma vez que promove a clivagem do neurotransmissor acetilcolina após sua liberação nas fendas sinápticas durante a transmissão colinérgica (OLIVEIRA, 2014). O aumento ou inibição da AChE pode indicar um dano oxidativo. O aumento da atividade da AChE está relacionado a superestimulação dos receptores neuromusculares (RAMIRES et al., 2020), alterando o sistema nervoso do bioindicador. Já a inibição da AChE indica o bloqueio na transmissão de impulsos nervosos, paralisando as funções vitais devido à sobreposição dos impulsos nervosos (STENESH, 1998) e acumulando acetilcolina dentro da fenda sináptica e ao mau funcionamento do sistema nervoso (FUKUTO, 1990).

Outro indicador de estresse oxidativo é o aumento na produção dos tióis não proteicos, que são antioxidantes não enzimáticos (MURUSSI et al., 2015). A glutathiona (GSH) representa os tióis não proteicos mais importante, tendo um papel vital na desintoxicação e excreção de xenobióticos juntamente com a GST; a diminuição nos seus níveis desequilibra o estado redox diminuindo a capacidade das células de lidar com xenobióticos (Wang; Ballatori, 1998; OLIVEIRA et al., 2010)

O teor de peróxidos de hidrogênio e a peroxidação lipídica também são indicadores de dano ou estresse oxidativo. O teor de peróxidos totais está envolvido nos processos de aclimatação e defesa, em baixo nível celular, sendo fundamental, então, para o desenvolvimento, metabolismo e homeostase de organismos (BIENERT; SCHJOERRING; JAHN, 2006; ŚLESIAK et al., 2007). Quando ocorre ataque de EROs aos lipídios, há a formação de peróxidos lipídicos, que podem se decompor para produzir alcanos, cetona e aldeídos (OTITOLOJU; OLAGOKE, 2011). Um produto final da peroxidação lipídica é o malondialdeído e este pode ser quantificado pelo ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um indicador de estresse às membranas biológicas (ALMROTH et al., 2005).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO E EFLUENTE DA PESQUISA

As amostras de lixiviado utilizadas nesta pesquisa foram coletadas de um aterro sanitário da região de Santa Maria, no Rio Grande do Sul (RS), que recebe em média 500 toneladas de resíduos sólidos domésticos diariamente, e gera, aproximadamente, 150 m³ de lixiviado por dia. O aterro atende 40 municípios do Estado do RS com a maior contribuição do município de Santa Maria (cerca de 50%) que possui atualmente 296 mil habitantes (IBGE/CIDADES, 2023) e está localizada no centro do Estado, aproximadamente 290 Km da capital Porto Alegre.

O efluente (lixiviado bruto) foi coletado de lagoas de armazenamento que recebem todo o efluente gerado no aterro. O sistema de drenagem do lixiviado ao longo do aterro apresenta configuração do tipo colchão drenante. Após as lagoas de armazenamento, o lixiviado deste aterro recebe tratamento através de sistema de osmose reversa. Para amostragem, 10 L de lixiviado bruto foram coletados e preservados a temperatura inferior a 4°C.

4.2 DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES

Foram determinados metais (potássio, cálcio, magnésio, cobre, zinco, ferro e manganês), nitrogênio e fósforo no lixiviado bruto e tratado. As análises dos elementos químicos foram realizadas no Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UFSM, utilizando métodos Padrão para Exame de Água e Esgoto (APHA, 2012), com algumas adaptações.

A determinação de agrotóxicos e fármacos do lixiviado bruto e tratado foi realizada no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas da UFSM empregando método de Extração em Fase Sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC - MS/MS) (DONATO, 2015). Os fármacos e agrotóxicos investigados são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Fármacos e agrotóxicos determinados nos lixiviado bruto e tratado oriundos do aterro sanitário de Santa Maria pelo Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas da UFSM através de método de Extração em Fase Sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC - MS/MS).

AGROTÓXICOS	FÁRMACOS
<p>Atrazina, azinfós-etílico, azinfós-metílico, azoxistrobina, bentazona, bitertanol, boscalida, bromoconazol, buprofenzina, carbaril, carbofurano, carbofurano-3-hidróxido, cianazina, clomazona, clorimurrom-etílico, clorpirifós-metílico, clorprofam, diazinona, difenoconazol, dimetoato, epoxiconazol, fempropatrina, fempropimorfe, fenarimol, fipronil, fluquinconazol, flutolanil, imazalil, imidacloprido, iprovalicarbe, linurom, malationa, mecarbam, mepronil, matalaxil, metconazol, metsulfurom-metílico, mevinfós, miclobutanil, monolinuron, paraoxom-etílico, piraclostrobina, pirazofós, piridafentiona, pirimetanil, pirimicarbe, pirimifós-metílico, procloraz, profenofós, propoxur, quincloraque, quinoxifeno, simazina, tebuconazol, terbufós, tetraconazol, tiacloprido, tiodicarbe, tolclófós-metílico, triadimefom, triadimenol, triazofós, trifloxistrobina.</p>	<p>Ácido nalidíxico, albendazol, Albendazol- 2 - amino, albendazol sulfona, albenazol sulfóxido, androstenediona, atenolol cafeína, carbamazepina, ciprofloxacino, clindamicina, cloranfenicol, clortetraciclina, diclofenaco sódico, ivermectina, lincomicina, mebendazol, metronidazol, norfloxacino, ofloxacino, paracetamol, progesterona, propranolol, sulfadiazina, sulfadoxina, sulfametoxazol, tetraciclina, testosterona, tiabendazol, trimetoprim.</p>

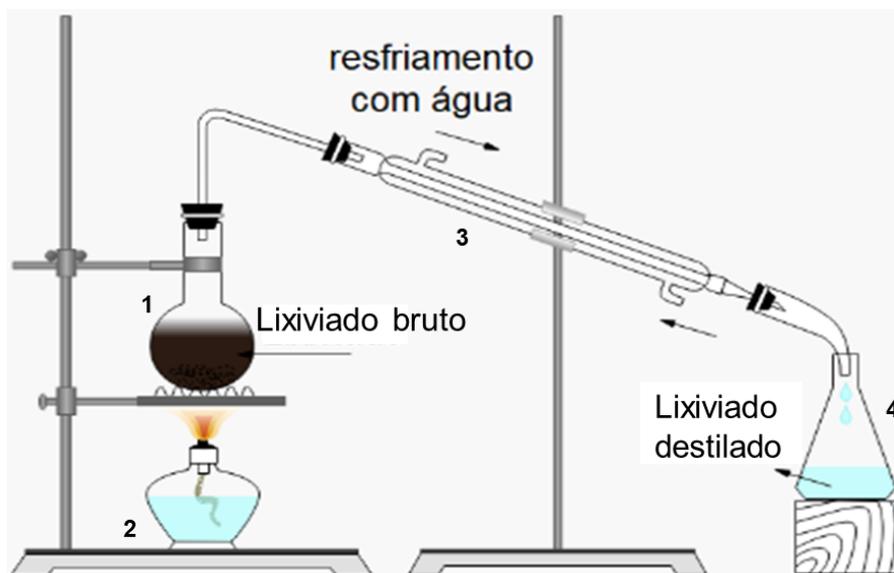
Fonte: Autora (2023).

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 Ensaio de destilação

Um sistema de destilação simples (Figura 4) foi montado no Laboratório de Engenharia do Meio Ambiente (LEMA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O sistema de destilação simples foi composto por: balão de destilação de 1000 ml (1), manta de aquecimento (2), condensador tipo Liebig (3), e um frasco para recolher o lixiviado destilado (4).

Figura 4 - Esquema da destilação simples aplicada ao lixiviado coletado no aterro sanitário de Santa Maria, Rio Grande do Sul.



Fonte: Autora (2023).

Amostras de lixiviado bruto coletadas no aterro sanitário foram submetidas à destilação simples através do aquecimento do lixiviado pela manta, o que provocou a evaporação das substâncias voláteis. O vapor gerado pela evaporação, ao entrar em contato com a superfície resfriada do condensador, condensou-se retornando para o estado líquido, que por ação da gravidade, escoou até o becker, onde foi coletado. O lixiviado destilado apresentou ausência de cor e de turbidez, e foi reservado para os ensaios de ecotoxicidade.

4.3.2 Características do Solo

O solo utilizado no experimento foi coletado no Campus da UFSM na camada de 0-10 cm. O solo apresentava textura arenosa e as seguintes características: pH em água 5,9; matéria orgânica 2%; Argila 14%; CTC 5,6; P 81,4 mg/L; K 440 mg/L; Ca 2,8 cmolc/L; Mg 1,7 cmolc/L; H+Al 1,2 cmolc/L; Cu 37,39 mg/L e Zn 6,08 mg/L. Durante o experimento a umidade do solo foi corrigida e mantida para uma capacidade de campo (CC) de 60% (ISO, 2014), sem necessidade de ajustar a acidez. A CC foi de 0,143 m³/m³, determinada em uma mesa de tensão com amostras de solo saturadas por 48 h e submetidas a

um potencial de 10 kPa por 4 dias (KLUTE, 1986). Além disso, foi determinado a densidade do solo, resultando em 1,441 g/cm³ (CLAESSEN, 1997).

4.3.3 Organismo Teste

As minhocas *Eisenia andrei* foram mantidas em condições de laboratório, a uma temperatura de 25 ± 2 °C e umedecido com água destilada. Utilizou-se restos de alimentos (cascas de frutas e legumes, hortaliças, cascas e ovos, entre outros) como fonte de matéria orgânica. Foram usados nos testes organismos adultos, de aproximadamente 2 meses de idade, com o clitelo bem desenvolvido e biomassa individual que variava de 300 a 600 mg (ISO, 2014).

4.3.4 Experimento

Inicialmente o solo foi seco à temperatura ambiente (25°C ± 2 °C), peneirado (peneira de 2,5 mm) e organizado em recipientes plásticos com capacidade de 2 L (500 g de solo), cobertos com tecido-não-tecido (TNT) e pequenos furos foram feitos para que ocorresse a entrada de ar. O delineamento foi inteiramente casualizado composto por um fatorial 2X4 com três repetições. Foram utilizados dois tipos de lixiviado, bruto (B) e tratado (T), em quatro doses sendo: 0,0% (controle), 0,1%; 0,15%; 0,25% e 0,35% (v/v). Estas concentrações são as mesmas utilizadas em um experimento conduzido com o mesmo contaminante desta pesquisa, em que se avaliou os efeitos bioquímicos do bioindicador peixe *Danio rerio* (STORCK et al., 2023). As doses foram adicionadas com base no volume de solo em cada recipiente. Na concentração controle (0,0%) foi adicionado apenas água destilada. A umidade do solo de todos os recipientes foi corrigida com água destilada a fim de manter em 60% da CC. Conduziu-se então o experimento expondo as minhocas *Eisenia andrei*.

Inicialmente as minhocas foram ambientadas por 20 horas no mesmo solo e com a mesma alimentação do experimento. A umidade deste solo também foi ajustada a 60% da CC com água destilada. E imediatamente foi realizada a limpeza de seus intestinos durante 10 horas (as minhocas foram acomodadas sobre um papel filtro umedecido com água destilada e sem alimentação).

Dez minhocas foram acomodadas nos recipientes plásticos previamente preparados que continham uma fina camada de alimento (Figura 5). Após 7, 14, e 28 dias houve a coleta de 3, 3 e 4 indivíduos, respectivamente. Realizou-se o monitoramento semanal do experimento, adicionando algumas gotas de água destilada aos recipientes, a fim de controlar a umidade, e adicionando mais alimentos se necessário. As minhocas coletadas foram colocadas em tubos do tipo Eppendorf de 1,5 mL, e congeladas em nitrogênio líquido para posterior realização das análises bioquímicas.

Figura 5 – Experimento de exposição de minhocas *Eisenia andrei* ao lixiviado bruto e tratado do aterro sanitário de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.



A: bioindicador desta pesquisa, minhocas *Eisenia andrei*, antes de serem expostas aos contaminantes, B: recipientes contendo solo, matéria orgânica e as minhocas após ser montado o experimento, C: recipientes cobertos com TNT para evitar a fuga de indivíduos e com furos para a entrada de ar.

Fonte: autora (2023)

4.4 ANÁLISE BIOQUÍMICA

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Aquática da UFSM. 50 mg de tecidos das minhocas foram homogeneizados com tampão Tris-HCl (50 mM), pH 7,5 e centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para todas as análises, modificadas para microplacas (exceto a quantidade de proteína). Os biomarcadores analisados foram: atividade da glutathione S-transferase (GST), atividade da acetilcolinesterase

(AChE), determinação dos níveis de tiol não proteico (NPSH), determinação dos níveis de peroxidação lipídica (TBARS) e o níveis de peróxido de hidrogênio.

A atividade da glutatona S-transferase (GST) foi determinada conforme o método descrito por Habig; Pabst; Jakoby (1974). Para o ensaio, 20 μL de amostra foram adicionados a um sistema contendo tampão fosfato de potássio (TFK) 0,1M pH 7,5, EDTA 2,5 mM e água destilada. Utilizou-se como substrato o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), que formou GS-dinitrobenzeno (GS-DNB) na presença de glutatona reduzida (GSH). A leitura da absorbância foi em 340 nm e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol GS-DNB}\cdot\text{min}^{-1}\text{ mg proteína}^{-1}$.

Já a atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi mensurada de acordo com Ellman et al. (1961), onde 5 μL de amostra foram utilizados, juntamente com tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,5) e 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) 0,01 M como um sistema, e acetiltiocolina (0,075 M) como substrato. A leitura da absorbância foi em 412 nm e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$.

Os níveis de tiol não proteico (NPSH) foram determinados com base na reação de 5,5'-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) 0,01 M a grupos tiol após desproteinização com ácido tricloroacético (TCA) 10%, conforme descrito por Ellman (1959). A leitura da absorbância foi em 412 nm e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol SH}\cdot\text{g tecido}^{-1}$.

Os níveis de peroxidação lipídica foram determinados pelo método TBARS, de acordo com Draper e Hadley (1990) pela quantificação de malondialdeído (MDA) que reage com ácido tiobarbitúrico (TBA). A leitura da absorbância foi em 532 nm e os resultados foram expressos em $\text{nmol MDA}\cdot\text{mg de tecido}^{-1}$.

Os níveis de peróxido de hidrogênio foram avaliados de acordo com Velikova et al. (2000). Uma alíquota de amostra foi desproteinizada com TCA 10% na proporção 1:1, e então adicionado 50 μL de TFK 10 mM (pH 7,0) e 100 μL de iodeto de potássio (KI) 1M. A leitura da absorbância foi em 400 nm e o resultado expresso em $\mu\text{mol/mg de proteína}$.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após os resultados dos ensaios bioquímicos, os dados foram testados quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, o teste de ANOVA de duas vias foi usado para verificar as respostas bioquímicas em relação aos diferentes tratamentos, seguido do pós-teste de Tukey. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão. O valor de P foi considerado significativo quando $\leq 0,05$. As análises foram realizadas utilizando-se o software GraphPad Prism versão 6.

4.6 CRITÉRIOS UTILIZADOS PARA AVALIAR AS RESPOSTAS DOS BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.

Os seguintes critérios foram utilizados para avaliar as respostas dos biomarcadores nesta pesquisa:

- Diferença significativa entre as concentrações com lixiviado bruto e tratado em relação ao controle em cada tempo de exposição (7, 14 e 28 dias) e sem variação do tempo de exposição.
- Diferença significativa com o aumento das concentrações (0,1%; 0,15%; 0,25% e 0,35%) nas concentrações com lixiviado bruto e tratado, em cada tempo de exposição (7, 14 e 28 dias) e sem variação do tempo de exposição.
- Diferença significativa das concentrações com lixiviado bruto e lixiviado tratado com a variação do tempo de exposição e sem variação das concentrações.
- Diferença significativa das concentrações com lixiviado tratado em relação aos as concentrações com lixiviado bruto, com a mesma concentração e igual tempo de exposição.

5 RESULTADOS

5.1 CONTAMINANTES DETECTADOS EM LIXIVIADO BRUTO E LIXIVIADO TRATADO

Não foram encontrados pesticidas nos lixiviados bruto e tratado. Os metais e nutrientes encontrados e suas concentrações estão apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 – Concentrações dos metais e nutrientes detectados em lixiviado bruto e tratado.

	Lixiviado Bruto	Lixiviado Tratado
N (mg/L)	2494,5	1531,9
P (mg/L)	30,9	0,2
K (mg/L)	2855,58	0,34
Ca (mg/L)	35,49	1,03
Mg (mg/L)	207,45	0,15
Cu (mg/L)	0,07	0
Zn (mg/L)	2,29	0,02
Fe (mg/L)	8,45	0,08
Mn (mg/L)	3,52	0

Ainda foram encontrados os fármacos carbamazepina (2,137 µg/L), diclofenaco sódico (1,863 µg/L), lincomicina (0,518 µg/L), ofloxacino (0,060 µg/L), propranolol (0,170 µg/L) e sulfadiazina (1,135 µg/L) no lixiviado bruto. E no lixiviado tratado foram encontrados carbamazepina (0,012 µg/L), diclofenaco sódico (0,041 µg/L) e propranolol (0,028 µg/L). Os fármacos encontrados no lixiviado tratado apresentaram uma remoção de 99,44%; 97,8% e 83,53%, respectivamente.

5.2 BIOMARCADORES DE TOXICIDADE em *Eisenia andrei*.

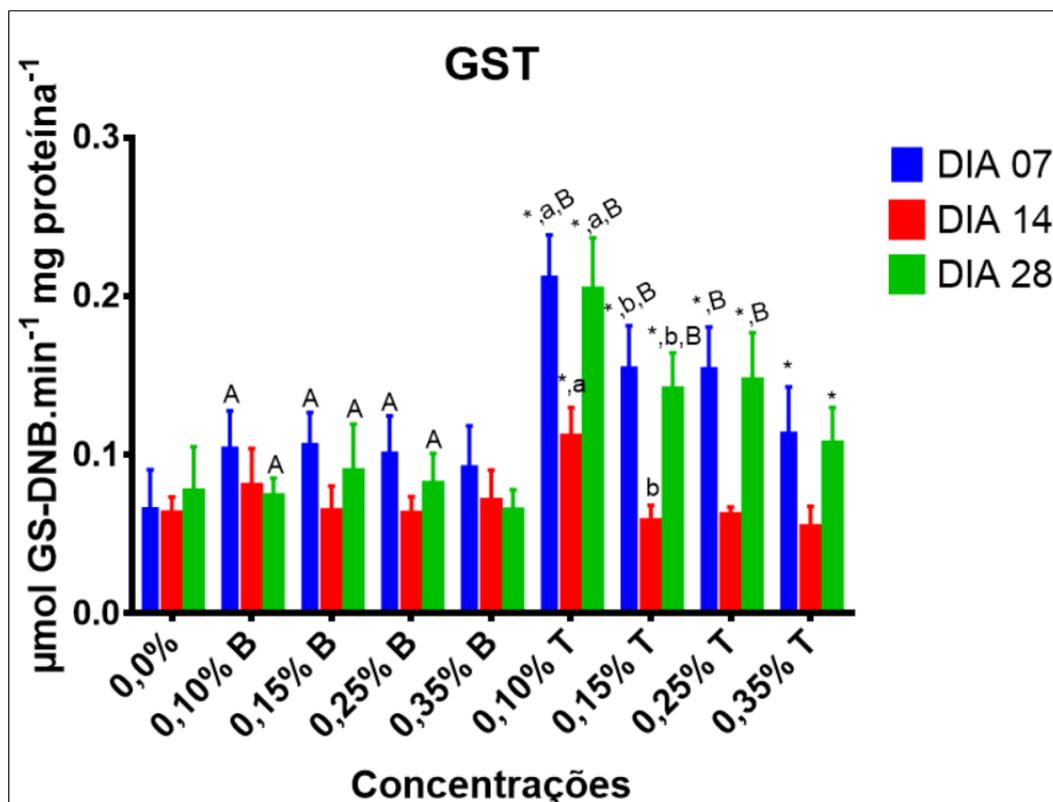
5.2.1 Atividade da enzima GST

Em geral, a atividade da GST permaneceu próxima ao controle nas concentrações com lixiviado bruto, e foi pouco alterada com o aumento das concentrações e com o passar do tempo. Já nas concentrações com lixiviado tratado ocorreu um aumento significativo na atividade da GST em relação ao controle. Aumentou a atividade na menor dose de lixiviado tratado e diminuiu com o aumento das concentrações. Com o passar do tempo, a atividade da GST diminuiu dos 7 aos 14 dias de exposição e aumentou dos 14 aos 28 dias de exposição. E a atividade da GST nas concentrações com lixiviado tratado foram maiores em relação as concentrações com lixiviado bruto.

Houve um aumento significativo na atividade da GST aos 7 dias e 28 dias de exposição em todas as concentrações com lixiviado tratado (0,10% T, 0,15% T, 0,25% T e 0,35% T) em relação ao controle. Também aumentou significativamente a atividade da GST aos 14 dias de exposição na concentração 0,10% T em relação ao controle. Com o aumento da concentração diminui a atividade da GST entre 0,10% T e 0,15% T nos três tempos de exposição avaliados (7, 14 e 28 dias).

Comparando a atividade da GST dos organismos expostos ao lixiviado tratado em relação ao lixiviado bruto, a atividade aumentou significativamente entre 0,10% B e 0,10% T; entre 0,15% B e 0,15% T e também entre 0,25% B e 0,25% T, aos 7 e aos 28 dias de exposição. A atividade da enzima GST está ilustrada na Figura 6.

Figura 6 – Atividade da enzima glutatona S-transferase (GST) em *Eisenia andrei* expostas em lixiviado bruto e tratado, em diferentes concentrações, aos 7, 14 e 28 dias de exposição.



0,0%: controle. B: lixiviado bruto. T: lixiviado tratado. Letras minúsculas correspondem a uma diferença significativa com o aumento da concentração. Letras maiúsculas representam uma diferença significativa entre B e T com a mesma concentração. * representa uma diferença significativa entre B ou T e o controle.

Fonte: Autora (2023).

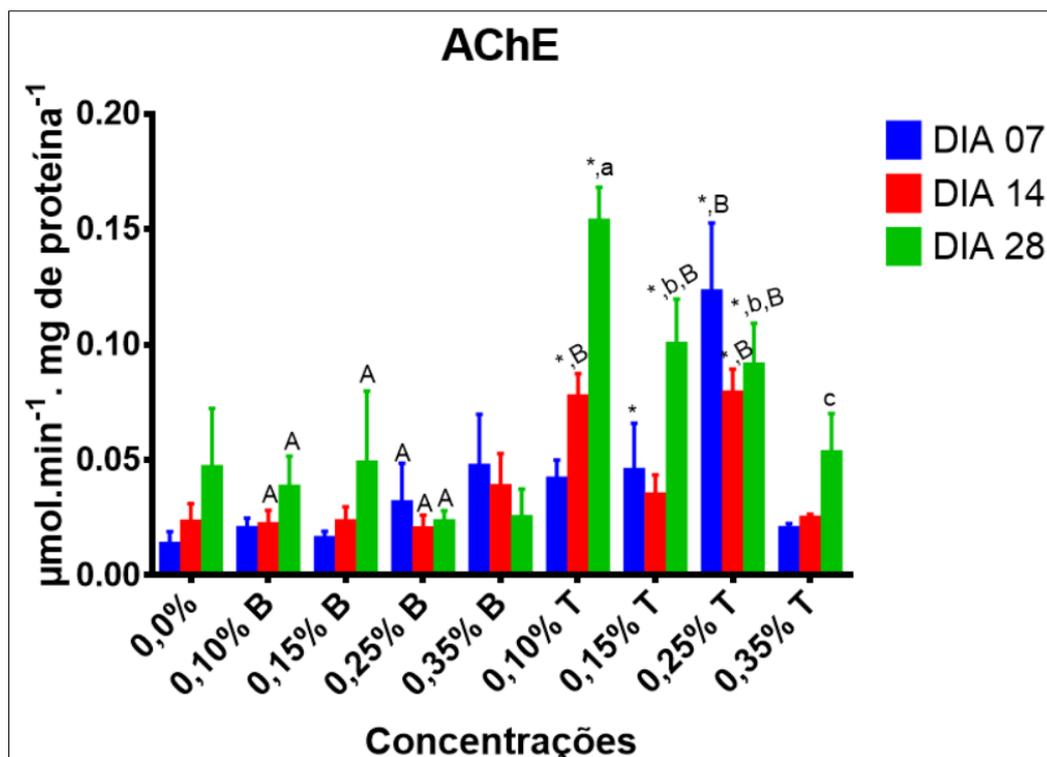
5.2.2 Atividade da enzima AChE

Em geral a atividade da AChE nas concentrações com lixiviado bruto foi pouco alterada em relação ao controle, assim como com o aumento das concentrações e com o passar do tempo. Já nas concentrações com lixiviado tratado houve um aumento da atividade da AChE em relação ao controle. Com o passar do tempo, a atividade da AChE apresentou comportamento variável, o mesmo ocorreu com o aumento das concentrações aos 7 e 14 dias de exposição e só aos 28 dias de exposição aumentou a atividade da AChE na menor concentração e diminuiu com o aumento da concentração. A atividade foi maior nas concentrações com lixiviado tratado em relação às concentrações com lixiviado bruto na maioria das concentrações.

A atividade da enzima AChE com lixiviado tratado foi significativamente maior em relação ao controle nas concentrações 0,15% T e 0,25% T aos 7 dias de exposição, também aumentou 0,10% T e 0,25% T aos 14 dias de exposição e aumentou nas concentrações 0,10% T, 0,15% T e 0,25% T aos 28 dias de exposição. Com o aumento da concentração aos 28 dias de exposição, a atividade diminuiu entre as concentrações 0,10% T e 0,15% T e diminuiu entre 0,25%T e 0,35%T.

A atividade da AChE em lixiviado tratado em relação lixiviado bruto foi significativamente maior entre os as concentrações 0,10% T e 0,10% B aos 14 dias e aos 28 dias de exposição. Também foi maior entre 0,15% T e 0,15% B, aos 28 dias de exposição. Já a atividade entre os tratamentos 0,25% T e 0,25% B foram significativamente maiores em todos os tempos de exposição, como apresentado na Figura 7.

Figura 7 – Atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em *Eisenia andrei* exposta em lixiviado bruto e tratado, em diferentes concentrações, aos 7, 14 e 28 dias de exposição.



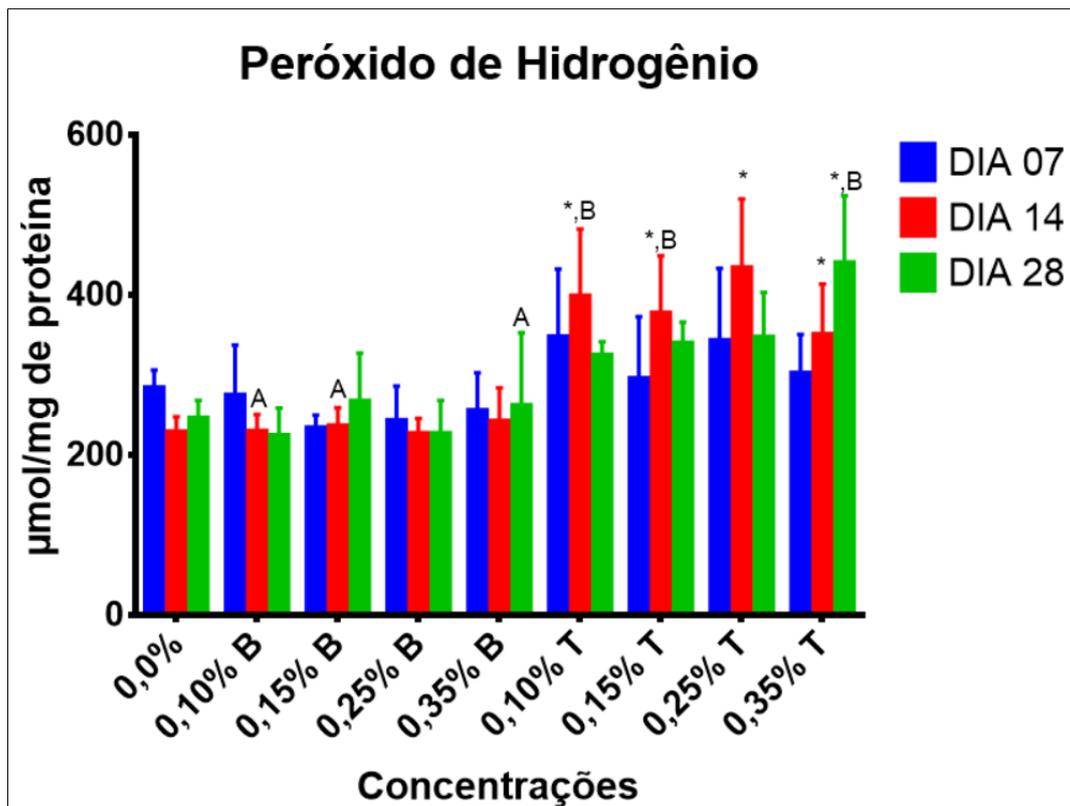
0,0%: controle. B: lixiviado bruto. T: lixiviado tratado. Letras minúsculas correspondem a uma diferença significativa com o aumento da concentração. Letras maiúsculas representam uma diferença significativa entre B e T com a mesma concentração. * representa uma diferença significativa entre o B ou T e o controle.

5.2.3 Níveis de peróxido de hidrogênio

Em síntese, não houve mudanças significativas nos níveis de peróxido de hidrogênio no líquido bruto nos parâmetros considerados neste estudo. Já nas concentrações com líquido tratado ocorreu um aumento nos níveis de peróxido de hidrogênio em relação ao controle, também aumentou com o passar do tempo e houve poucas mudanças com o aumento das concentrações. Comparando as concentrações do líquido tratado em relação ao líquido bruto, predominou o aumento nos níveis de peróxido de hidrogênio.

Nas concentrações com líquido tratado, houve um aumento significativo nos níveis de peróxido de hidrogênio em relação ao controle, em todas as concentrações, aos 14 dias de exposição. Aos 28 dias, os níveis de peróxido de hidrogênio na concentração de 0,35%T foram maiores em relação ao controle. Os níveis de peróxido em líquido tratado em relação ao líquido bruto foi significativamente maior entre as concentrações 0,10% T e 0,10% B, e entre as concentrações 0,15% T e 0,15% B em 14 dias de exposição. O mesmo ocorreu entre as concentrações 0,35% T e 0,35% B em 28 dias de exposição (Figura 8).

Figura 8 – Níveis de peróxido de hidrogênio em *Eisenia andrei* expostas em lixiviado bruto e tratado, em diferentes concentrações, aos 7, 14 e 28 dias de exposição.



0,0%: controle. B: lixiviado bruto. T: lixiviado tratado. Letras maiúsculas representam uma diferença significativa entre B e T com a mesma concentração. * representa uma diferença significativa entre o B ou T e o controle.

Fonte: Autora (2023).

5.2.4 Níveis de peroxidação lipídica através de TBARS

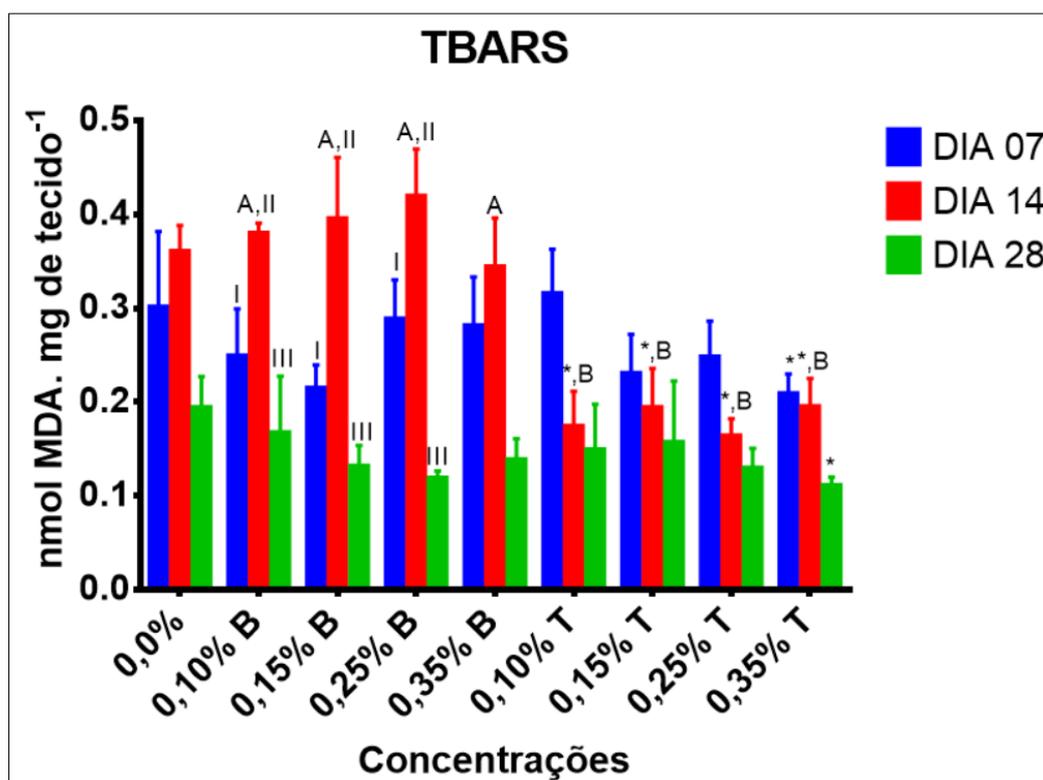
Resumidamente os níveis de TBARS nas concentrações com lixiviado bruto aos 7 e 14 dias de exposição foram maiores que o controle e menores que o controle aos 28 dias de exposição; já o nível de TBARS em relação ao aumento da concentração variou aos 7 dias, aumentou aos 14 dias e diminuiu aos 28 dias de exposição; e com relação ao tempo de exposição aumentou dos 7 aos 14 dias e diminuiu dos 14 aos 28 dias de exposição. Em geral, nas concentrações com lixiviado tratado ocorreu uma diminuição nos níveis de TBARS nos critérios desta pesquisa. Comparando as concentrações do lixiviado tratado em relação ao lixiviado bruto, também ocorreu uma diminuição.

Em relação ao tempo de exposição, aumentou os níveis de TBARS nas concentrações 0,10% B, 0,15% B e 0,25% B com lixiviado bruto, entre os 7 e os

14 dias de exposição, e diminuiu entre os 14 e 28 dias de exposição. Na concentração 0,35% B os níveis de TBARS também diminuiu significativamente entre os 14 e 28 dias de exposição.

Os níveis de TBARS aos 7 e 28 dias de exposição na concentração 0,35% T foi significativamente menor em relação ao controle e diminuiu em todas as concentrações em relação ao controle aos 14 dias de exposição. Comparando a mudança nos níveis de TBARS entre as concentrações com lixiviado tratado e bruto, ocorreu uma diminuição significativa entre as concentrações 0,10% T e 0,10% B, 0,15% T e 0,15% B, 25% T e 25% B e 0,35% T e 0,35% B aos 14 dias de exposição. A Figura 9 mostra as concentrações de TBARS nos critérios avaliados neste estudo.

Figura 9 – Níveis de TBARS em *Eisenia andrei* expostas em lixiviado bruto e tratado, em diferentes concentrações, aos 7, 14 e 28 dias de exposição.



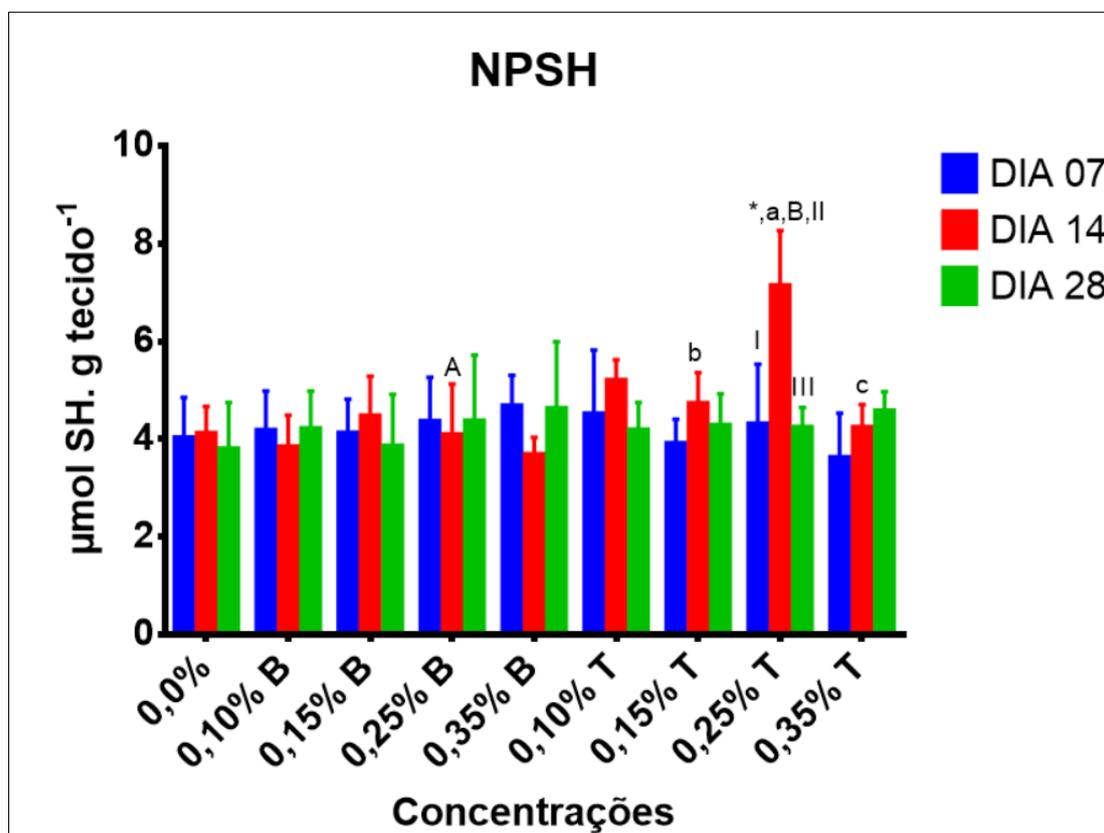
0,0%: controle. B: lixiviado bruto. T: lixiviado tratado. Letras maiúsculas representam uma diferença significativa entre B e T com a mesma concentração. Números representam uma diferença significativa ao longo do tempo de exposição com a mesma concentração. * representa uma diferença significativa entre o B ou T e o controle.

Fonte: Autora (2023).

5.2.5 Níveis de tióis não proteicos (NPSH)

Os níveis de tióis não proteicos tiveram um pico na concentração 0,25% T aos 14 dias de exposição, aumentando em relação ao controle. Comparando os níveis desta concentração em relação aos tempos de exposição, os níveis aumentaram dos 07 aos 14 dias de exposição e diminuíram dos 14 aos 28 dias de exposição. Comparando a atividade entre as concentrações com lixiviado tratado (0,25% T) e lixiviado bruto (0,25% B), a atividade da NPSH aumentou significativamente (Figura 10).

Figura 10 – Níveis de tióis não proteicos (NPSH) em *Eisenia andrei* expostas em lixiviado bruto e tratado, em diferentes concentrações, aos 7, 14 e 28 dias de exposição.



0,0%: controle. B: lixiviado bruto. T: lixiviado tratado. Letras maiúsculas representam uma diferença significativa entre B e T com a mesma concentração. Letras minúsculas correspondem a uma diferença significativa com o aumento da concentração. Números representam uma diferença significativa ao longo do tempo de exposição com a mesma concentração. * representa uma diferença significativa entre o B ou T e o controle.

Fonte: Autora (2023).

6 DISCUSSÃO

Este estudo mostra que o tratamento do lixiviado através do método de destilação simples foi positivo com relação a remoção de metais, ocorrendo uma diminuição da concentração de todos os metais detectados no lixiviado tratado em relação ao lixiviado bruto. A concentração dos metais Cu, Zn, Fe e Mn no lixiviado tratado ficou dentro dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA Nº 430 / 2011 para o lançamento de efluentes em corpos receptores (BRASIL, 2011) e também atendem aos limites de emissão no âmbito estadual dispostos na Resolução CONSEMA Nº 355 / 2017. Porém, conforme as respostas dos biomarcadores neste estudo, há efeitos de estresse oxidativo a nível celular e molecular em *Eisenia andrei* que podem ser causados por estes metais, mesmo presentes em baixas concentrações e em acordo com os limites de lançamento. A literatura traz muitos estudos mostrando que a exposição de minhocas a diversos contaminantes, incluindo metais, potencializa a geração de EROs (BOUGHATTAS et al., 2016; XING et al., 2018; MKHININI et al., 2019). Além disso, os metais podem ter efeitos sinérgicos ou antagônicos (FAGBENRO et al. 2019; JIJIE et al., 2020). Portanto, a avaliação apenas de parâmetros físico-químicos não é suficiente para confirmar a toxicidade do lixiviado, que apesar de estar de acordo com a legislação para os parâmetros analisados, pode causar efeitos adversos nos organismos.

Com relação aos fármacos, também ocorreu uma diminuição da concentração no lixiviado tratado em relação ao bruto e até a remoção total dos fármacos lincomicina, ofloxacino e sulfadiazina. Não há informações relacionadas à ação de fármacos em minhocas, mas foram encontradas alterações na atividade de peixes que também foram expostos ao lixiviado de aterro desta pesquisa, induzindo a atividade da AChE e GST na presença de fármacos (STORCK et al., 2023).

As preocupações atuais em relação às avaliações de risco ambiental também consideram o estudo dos efeitos subletais em baixas concentrações de contaminantes, em que os efeitos dos contaminantes nos níveis celular e molecular podem ser entendidos com mais clareza sobre o mecanismo de toxicidade (SAGGIORO et al., 2019). Este estudo demonstrou que o lixiviado bruto e tratado, mesmo em baixas concentrações, pode afetar a atividade das

enzimas relacionadas ao estresse oxidativo como a GST e a AChE e os indicadores de danos oxidativos, peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio.

Nas concentrações com lixiviado bruto, em que há maior variedade e concentração de contaminantes, não ocorreu alteração na atividade da GST em relação ao controle, e pode-se indicar que os contaminantes presentes no lixiviado bruto limitaram a indução da atividade desta enzima de desintoxicação, (LIU et al., 2017), podendo haver uma tolerância aos contaminantes presentes no lixiviado bruto. Desta forma, ocorreu um acúmulo de EROs, sobrecarregando os sistemas de defesa antioxidante e com isso a síntese ou estrutura das enzimas antioxidantes pode ser facilmente influenciada, resultando em uma diminuição na atividade enzimática (YANG et al., 2015; LI et al., 2020), e alteração na síntese de lipídeos (ZHANG et al., 2015; CORREIA et al., 2021). Os níveis de peroxidação lipídica nas concentrações com lixiviado bruto pode evidenciar que houve danos oxidativos nas células das minhocas *Eisenia andrei*, e estes danos não foram contidos pelos mecanismos de defesa da célula da enzima GST a atividade da GST foi limitada nas concentrações com lixiviado bruto.

Em relação as concentrações com lixiviado tratado, acredita-se também na hipótese que o método de destilação simples pode ter modificado características da composição do lixiviado bruto, alterando e/ou removendo outros contaminantes, diminuindo sua toxicidade e possibilitando as modificações nas EROs evidenciadas neste estudo. Na menor concentração com lixiviado tratado, a atividade da GST foi significativamente maior em relação às demais doses, ocorrendo uma indução da atividade enzimática como um mecanismo de defesa antioxidante, que pode ser atribuído a uma adaptação metabólica da minhoca *Eisenia andrei* a uma menor concentração e quantidade de contaminantes (LIU et al., 2010; MKHININI et al., 2019). A atividade da GST nas minhocas diminuiu à medida que as concentrações do lixiviado tratado foram aumentando. Comportamento semelhante ocorreu na pesquisa de Sales Junior et al. (2021) onde ocorreu uma resposta dose dependente na atividade da GST em minhocas *Eisenia andrei* expostas a lixiviado bruto, aumentando a atividade da GST na menor concentração (0,10% T) e diminuindo a atividade da GST à medida que as concentrações foram aumentando (0,15 T, 0,25%T e 0,35%T). Este comportamento pode ser atribuído à interação de várias enzimas, que

diminuíram os impactos de poluentes externos, enfraquecendo assim a indução de GST (MA et al., 2017; SONG et al., 2018; SONG et al., 2019). Também pode indicar que a capacidade de desintoxicação das células foi inibida pelos contaminantes presentes no lixiviado tratado a medida que sua concentração aumentou, como mostram outros estudos em que contaminantes como inseticida, fungicida e pesticidas inibem a atividade da GST em minhocas *Eisenia andrei* à medida que a concentração desses componentes tóxicos aumenta (ZHANG et al., 2015; LIU et al., 2017; CORREIA et al., 2021; LACKMANN et al., 2022).

Outro ponto relevante em relação a atividade da GST é que o aumento da atividade na menor concentração do lixiviado tratado e a diminuição da atividade à medida que a concentração foi aumentando, pode ser atribuído a uma possível hormese (CALABRESE, 2005), comportamento muitas vezes encontrado em estudos toxicológicos sobre produtos tóxicos (PRESTES et al., 2020), e uma característica comum em experimentos de concentrações crescente (WANG et al., 2010). Este comportamento pode estar relacionado a uma característica dose-resposta diferenciada, em que há uma resposta adaptativa do organismo, como estratégia de alocação de recursos defensivos para manter a homeostase (CALABRESE, 2002). Laszczyca et al. (2004) e Hattab et al. (2023) mostram que os metais Mn, Zn e Cu alteraram a atividade da GST em minhocas, ocorrendo também uma adaptação temporária (hormética) como o resultado do equilíbrio instantâneo entre a produção e a degradação de proteína específica. O estudo de Storck et al. (2023) também mostra uma dose-resposta diferenciada na atividade da GST, mantendo a homeostase em peixes expostos ao mesmo contaminante dessa pesquisa.

Aos 28 dias de exposição nas concentrações com lixiviado tratado, ocorreu um aumento da atividade da AChE na menor concentração, e conseqüentemente a concentração com menos contaminantes, podendo indicar a capacidade da célula de suportar os contaminantes presentes no lixiviado tratado por destilação simples. Hackenberger et al. (2012) mostraram que minhocas *Eisenia andrei* apresentam capacidade de adaptação temporária a contaminantes com baixos níveis de substâncias tóxicas, levando a uma compensação na produção da enzima AChE. Porém, após uma diminuição da atividade à medida que aumentava a concentração do lixiviado tratado, ou seja,

o aumento dos contaminantes disponíveis, provocou a diminuição da atividade da AChE, evidenciando que os contaminantes presentes no lixiviado tratado, mesmo em baixas concentrações, podem inibir a atividade da AChE, excedendo a capacidade da *Eisenia andrei* de suportar o estresse (VELKI; HACKENBERGER, 2013; MURUSSI et al., 2015; NUSAIR; ABU ZAROUR; ALTARIFI, 2017), levando ao acúmulo do neurotransmissor acetilcolina e conduzindo a uma desordem no sistema nervoso. Este comportamento também pode ser uma possível adaptação temporária. Zhou et al. (2012) mostraram que o aumento da concentração de Cu também inibiu a atividade da AChE em minhocas, podendo estar associado a um mecanismo adaptativo.

Aos 28 dias de exposição com lixiviado bruto e nas concentrações com lixiviado tratado ocorreu uma possível hormese, pois na maior concentração (0,10%) foi elevada a peroxidação lipídica e com o aumento das concentrações (0,15%, 0,25% e 0,35%) o teor foi reduzido. Pode-se estar relacionado à remoção de radicais livres junto às outras enzimas antioxidantes (diferente da GST), bem como a capacidade de autorreparo de minhocas (LIU et al., 2017; SONG et al., 2018; WANG et al., 2018; HATTAB et al., 2020). Sales Junior et al. (2021) também apresentam respostas quanto à peroxidação lipídica, indicando que houve uma indução do sistema antioxidante contra as EROs geradas após a exposição ao lixiviado nos primeiros tempos (7, 21, 35, 49 e 63 dias), e uma sobrecarga subsequente ao final da exposição (75 dias). Há resposta parecida no que abrange o tempo de exposição que esta pesquisa foi desenvolvida (7,14 e 28 dias), mostrando também uma indução do sistema ao dano oxidativo. Hattab et al. (2020) e Yan et al. (2021) mostram que entre outros metais, o Zn é capaz de induzir a peroxidação lipídica em minhocas ao conduzir informações celulares desordenadas, danificando células. Storck et al. (2023) também mostram que os fármacos e metais presentes no lixiviado são capazes de induzir a uma peroxidação lipídica em peixes.

Mkhinini et al. (2019) e Hattab et al. (2023) indicam que o aumento do tempo de exposição, dos 7 aos 14 dias, diminuiu o nível de peroxidação lipídica em minhocas em solos contaminando com metais, assim como neste estudo, podendo ser atribuído à adaptação ao estresse oxidativo após um período de exposição. A diminuição dos níveis de peroxidação lipídica das concentrações com lixiviado tratado em relação ao lixiviado bruto, juntamente a menor

concentração de poluentes do lixiviado tratado, indicam um menor dano oxidativo nas células das minhocas *Eisenia andrei*, corroborando para a eficácia de utilizar o método destilação simples como parte do tratamento do lixiviado.

O aumento do teor de peróxido de hidrogênio nas concentrações com lixiviado tratado, efluente com menor presença de contaminantes, evidencia que os contaminantes presentes no lixiviado bruto são capazes de inibir este indicador de dano oxidativo. Há um limite de detecção no teor de peróxido de hidrogênio em que afeta a capacidade de aclimatação e defesa das minhocas *Eisenia andrei*. Nesta pesquisa os níveis de tióis não proteicos não foram significativos para afirmar uma relação com o estresse ou dano oxidativo, pois só houve um aumento significativo em seu nível na concentração 0,25% T aos 14 dias de exposição. Este antioxidante não foi capaz de conter o dano oxidativo dos efluentes desta pesquisa.

7 CONCLUSÃO

O estudo mostrou que o método de destilação simples pode ser aplicado como um processo no tratamento do lixiviado de aterro, pois apresentou eficácia na remoção de contaminantes, diminuindo a concentração de metais e fármacos do lixiviado tratado, e atingindo os padrões de lançamento da resolução CONAMA nº 430 / 2011 para Cu, Zn, Fe e Mn. Além disso, ocorreu a diminuição da toxicidade do lixiviado bruto com a aplicação do método de destilação simples, conforme as respostas dos biomarcadores de toxicidade avaliados neste estudo.

O tratamento do lixiviado é complexo e de alto custo operacional, e a utilização de um método que já se mostrou eficaz e que permite a utilização de energias alternativas para ser empregado, diminuindo custo, torna a destilação simples um método promissor no processo de tratamento do lixiviado. Porém, as respostas bioquímicas mostram que o método de destilação simples não pode ser o único método empregado no tratamento, pois há efeitos nas minhocas após o tratamento. Apesar da eficácia na eliminação de contaminantes e diminuição da toxicidade, o método não foi capaz de eliminar todos os contaminantes presentes no efluente de aterro.

As respostas toxicológicas foram ferramentas essenciais para avaliar a toxicidade do solo, respondendo apenas a fração disponível de contaminantes. Por fim, as minhocas *Eisenia andrei* mostraram-se um excelente bioindicador para comprovar o método de destilação simples como parte do tratamento do lixiviado de aterro, trazendo respostas bioquímicas melhores ao comparar as respostas do lixiviado bruto sobre os efeitos da diminuição dos contaminantes após o tratamento. Além disso, este bioindicador pode ser utilizado nas validações de outros métodos de tratamento do lixiviado de aterros sanitários.

REFERÊNCIAS

- ABRELPE. Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2020. **Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais - ABRELPE**, p. 51, 2020.
- ADAMCOVÁ, D. et al. Soil contamination in landfills: A case study of a landfill in Czech Republic. **Solid Earth**, v. 7, n. 1, p. 239–247, 2016.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology.**, v. 105, p. 121–126, 1984.
- AIRA, M.; MONROY, F.; DOMÍNGUEZ, J. *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Lumbricidae) modifies the structure and physiological capabilities of microbial communities improving carbon mineralization during vermicomposting of pig manure. **Microbial Ecology**, v. 54, n. 4, p. 662–671, 2007.
- AKINBILE, C. O.; YUSOFF., M. S. Environmental Impact of Leachate Pollution on Groundwater Supplies in Akure, Nigeria. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 2, n. 1, p. 81–86, 2011.
- AKINBILE, C. O.; YUSOFF, M. S.; AHMAD ZUKI, A. Z. Landfill leachate treatment using sub-surface flow constructed wetland by *Cyperus haspan*. **Waste Management**, v. 32, n. 7, p. 1387–1393, 2012.
- ALMROTH, B. C. et al. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. **Aquatic Toxicology**, v. 73, n. 2, p. 171–180, 2005.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard Methods for the Examination of water and wastewater**. 22. Ed American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation. Edited by: Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton, Lenore S. Clesceri. 2012.
- ARIBUDIMAN, I. N. et al. Analysis Effect of Leachate on Sandy Clay Soil. **International Journal of Engineering and Emerging Technology**, v. 4, n. 1, p. 81–89, 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Resolução: ABNT NBR ISO-17512/2011. Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro (Brasil): ABNT; 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Resolução: ABNT NBR ISO-15537/2014. Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaio com minhocas (Lumbricidae). Rio de Janeiro (Brasil): ABNT; 2014.

AZIZ, H. A. et al. Physico-chemical removal of iron from semi-aerobic landfill leachate by limestone filter. **Waste Management**, v. 24, n. 4, p. 353–358, 2004.

BARATA, C. et al. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 140, n. 2, p. 175–186, 2005.

BARILLET, S. et al. Bioaccumulation , Oxidative Stress , and Neurotoxicity in *Danio Rerio*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 497–505, 2007.

BIENERT, G. P.; SCHJOERRING, J. K.; JAHN, T. P. Membrane transport of hydrogen peroxide. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1758, n. 8, p. 994–1003, 2006.

BOUGHATTAS, I. et al. Biomarker responses of *Eisenia andrei* to a polymetallic gradient near a lead mining site in North Tunisia. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 530–541, 2016.

BOZKURT, S.; MORENO, L.; NERETNIEKS, I. Long-term processes in waste deposits. **Science of the Total Environment**, v. 250, n. 1–3, p. 101–121, 2000.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 - 254, 1976.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento 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 União**, Brasília, 16 de maio de 2011. 9 p.

BRASIL. LEI Nº 12.305, DE 2 DE AGOSTO DE 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 agosto, 2010. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/12305.htm. Acesso em 09 de fev. 2022.

CALABRESE, E.J., BALDWIN, L.A. Defining hormesis. **Human & Experimental Toxicology**. v. 21, p. 91–97, 2002.

CALABRESE, E. J. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. **Environmental Pollution**, v. 138, n. 3, p. 378–411, 2005.

CASTILHOS, A. B. DE et al. Tratamento de Lixiviado de Aterro sanitário em sistema de Lagoas. In: GOMES, L. P. (Ed.). **Resíduos sólidos: Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as**

Condições Brasileiras. [s.l.] Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras, 2009. p. 362.

CAVALCANTI, A. S. et al. Estudo da aplicação de foto-Fenton($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) solar no pré-tratamento do chorume. 2013.

CEMPRE E IPT. **Lixo municipal - manual de gerenciamento integrado.** [s.l.: s.n.].

CHAKRA REDDY, N.; VENKATESWARA RAO, J. Biological response of earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) to an organophosphorous pesticide, profenofos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 2, p. 574–582, 2008.

CORREIA, F. V. et al. Ecotoxicological evaluation of imazalil transformation products on *Eisenia andrei*. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 2, p. 198–212, 2021.

COSTA, A. M.; ALFAIA, R. G. DE S. M.; CAMPOS, J. C. Landfill leachate treatment in Brazil – An overview. **Journal of Environmental Management**, v. 232, n. October 2018, p. 110–116, 2019.

COTHREN, G.M., CHEN, S., PARDUE, J.H. Investigation of subsurface flow constructed wetland designs. **Public Works Manage. Policy** 7, 32–45. 2022.

DA COSTA, F. M. et al. Evaluation of the biodegradability and toxicity of landfill leachates after pretreatment using advanced oxidative processes. **Waste Management**, v. 76, p. 606–613, 2018.

DE MORAIS, J. L.; ZAMORA, P. P. Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 123, n. 1–3, p. 181–186, 2005.

DOMINGUES, L. G. F.; DOS SANTOS FERREIRA, G. C.; PIRES, M. S. G. Physicochemical and microbiological characteristics of waste foundry sand used in landfills. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 10, 2022.

DONATO, F. F. et al. Development of a multiresidue method for pesticide analysis in drinking water by solid phase extraction and determination by gas and liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 10, p. 2077–2087, 2015.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421–431, 1990.

ELLMAN G. L.; COURTNEY K. D; ANDRES V. Jr. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, **Biochem Pharmacol**, v. 7, p. 88–95, 1961

ELLMAN G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, v. 82, p. 70–77, 1959

FAGBENRO O. S; ALIMBA C. G; BAKARE A. A. Experimental modeling of the acute toxicity and cytogenotoxic fate of composite mixtures of chromate, copper and arsenate oxides associated with CCA preservative using *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). **Environmental Analysis Health and Toxicology**, v. 34, 2019.

FERREIRA, T. **Biomarcadores enzimáticos e ecotoxicidade por cobre em *Eisenia andrei* (Bouché 1972)**. 2015. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2015.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245–254, 1990.

GHOSH, P.; THAKUR, I. S.; KAUSHIK, A. Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, n. March, p. 259–270, 2017.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, p. 7130 – 7139, 1974.

HATTAB, S. et al. Impact of Intensive Farming on Soil Heavy Metal Accumulation and Biomarkers Responses of Earthworms *Eisenia andrei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 105, n. 4, p. 559–564, 2020.

HATTAB, S. et al. Heavy metal accumulation, biochemical and transcriptomic biomarkers in earthworms *Eisenia andrei* exposed to industrially contaminated soils from south-eastern Tunisia (Gabes Governorate). **Science of the Total Environment**, v. 887, n. February, p. 163950, 2023.

HUANG, J.; HARTEMINK, A. E. Soil and environmental issues in sandy soils. **Earth-Science Reviews**, v. 208, n. June, p. 103295, 2020.

HUANG, Y.; FAN, G. Engineering geological analysis of municipal solid waste landfill stability. **Natural Hazards**, v. 84, n. 1, p. 93–107, 2016.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010. Cidades. Rio de Janeiro. Acesso em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/santa-maria/panorama>. Acesso 09 abril. 2022.

IDOWU, I. A. et al. An analyses of the status of landfill classification systems in developing countries: Sub Saharan Africa landfill experiences. **Waste Management**, v. 87, p. 761–771, 2019.

IGHALO, J. O.; ADENIYI, A. G. A comprehensive review of water quality monitoring and assessment in Nigeria. **Chemosphere**, v. 260, p. 127569, 2020.

ILHAMI, S. F. I.; PURWANTO, P.; YULIANTO, B. The biological treatment method for landfill leachate. **E3S Web of Conferences**, v. 202, p. 1–7, 2020.

JIJIE, R. et al. Antagonistic effects in zebrafish (*Danio rerio*) behavior and oxidative stress induced by toxic metals and deltamethrin acute exposure. **Science of the Total Environment**, v. 698, p. 134299, 2020.

KANMANI, S.; GANDHIMATHI, R. Assessment of heavy metal contamination in soil due to leachate migration from an open dumping site. **Applied Water Science**, v. 3, n. 1, p. 193–205, 2013.

KJELDSEN, P. et al. Present and long-term composition of MSW landfill leachate: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, n. 4, p. 297–336, 2002.

KLAUCK, C. R. et al. Evaluation of acute toxicity, cytotoxicity and genotoxicity of landfill leachate treated by biological lagoon and advanced oxidation processes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 6, p. 6188–6193, 2017.

KOERNER, R. M.; SOONG, T. Y. Leachate in landfills: The stability issues. **Geotextiles and Geomembranes**, v. 18, n. 5, p. 293–309, 2000.

KULIKOWSKA, D.; KLIMIUK, E. The effect of landfill age on municipal leachate composition. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5981–5985, 2008.

LACKMANN, C. et al. Two types of microplastics (polystyrene-HBCD and car tire abrasion) affect oxidative stress-related biomarkers in earthworm *Eisenia andrei* in a time-dependent manner. **Environment International**, v. 163, n. December 2021, 2022.

LASZCZYCA, P. et al. Profiles of enzymatic activity in earthworms from zinc, lead and cadmium polluted areas near Olkusz (Poland). **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 901–910, 2004.

Li, X. et al. Evaluation of joint toxicity of heavy metals and herbicide mixtures in soils to earthworms (*Eisenia fetida*). **Journal of Environmental Sciences**. 94, 137–146, 2020.

LIMA, L. S. M. D. S. **Quantificação e remoção de substâncias húmicas em lixiviados provenientes de aterros de resíduos sólidos urbanos**. 2017. 170 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Escola de Química, Rio de Janeiro, RJ, 2017.

- LIU, T. et al. Oxidative stress and gene expression of earthworm (*Eisenia fetida*) to clothianidin. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, n. April, p. 489–496, 2017.
- LIU, Y. et al. Oxidative stress and DNA damage in the earthworm *Eisenia fetida* induced by toluene, ethylbenzene and xylene. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 8, p. 1551–1559, 2010.
- LUO, H. et al. Recent advances in municipal landfill leachate: A review focusing on its characteristics, treatment, and toxicity assessment. **Science of the Total Environment**, v. 703, 2020.
- MA, T. et al. Toxicity effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate to *Eisenia fetida* at enzyme, cellular and genetic levels. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–12, 2017.
- MAGALHÃES, D. P; FILHO, A. S. F. A. Ecotoxicologia como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008.
- McBRIDE, M.B. Environmental Chemistry of Soils. New York: Oxford University Press, Oxford. 1994
- MEDEIROS, B. L. DE et al. lii-078 – Avaliação Da Toxicidade Do Lixiviado De Aterro Sanitário Pós Tratamento Foto-Fenton. n. 1, p. 1–8, 2010.
- METCALF; EDDY. Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse. 5 ed. **New York: McGraw-Hill**, 1334 p, 2016.
- MKHININI, M. et al. Effect of treated wastewater irrigation in East Central region of Tunisia (Monastir governorate) on the biochemical and transcriptomic response of earthworms *Eisenia andrei*. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1245–1255, 2019.
- MOJIRI, A.; AZIZ, H. A.; AZIZ, S. Q. Trends in Physical-Chemical Methods for Landfill Leachate Treatment. **International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences**, n. May 2014, p. 16–25, 2013.
- MONTVYDIENĖ, D. et al. Contrasting Ecotoxic Effects of Landfill Leachate and Cyanobacterial Biomass on Aquatic Organisms. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 7, 1 jul. 2020.
- MORAVIA, W. G. Avaliação do tratamento de lixiviado de aterro sanitário através de processo oxidativo avançado conjugado com sistema de separação por membranas. p. 262, 2010.
- MURUSSI, C. R. et al. Integrated Assessment of Biomarker Response in Carp (*Cyprinus carpio*) and Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) Exposed to Clomazone. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, n. 4, p. 646–654, 2015.

NOLETO, K. S. et al. Biochemical and Histological Biomarkers in *Crassostrea* sp. (Bivalvia, Ostreidae) for Environmental Monitoring of a Neotropical Estuarine Area (São José Bay, Northeastern Brazil). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 106, n. 4, p. 614–621, 2021.

NURENE – Núcleo Regional Nordeste. ZANTA, V. M; et al. (org). Resíduos Sólidos: plano de gestão integrada de resíduos. Salvador: ReCESA, 2008. 76 p.

NUSAIR, S. D.; ABU ZAROUR, Y. S. ID; ALTARIFI, A. A. Effects of Dibenzo-p-Dioxins/Dibenzofurans on Acetylcholinesterase Activity and Histopathology of the Body Wall of Earthworm *Eisenia andrei*: a Potential Biomarker for Ecotoxicity Monitoring. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 228, n. 7, 2017.

OLIVEIRA, L. L. D. DE. Biomarcadores enzimáticos e testes ecotoxicológicos na avaliação da toxicidade de fármacos em invertebrados aquáticos. p. 257, 2014.

OLIVEIRA, M. et al. Monitoring pollution of coastal lagoon using *Liza aurata* kidney oxidative stress and genetic endpoints: An integrated biomarker approach. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 4, p. 643–653, 2010.

LOLADE, O. O. et al. Impact of leachate from northern landfill site in Bloemfontein on water and soil quality: Implications for water and food security. **Sustainability (Switzerland)**, v. 11, n. 15, 2019.

OTITOLOJU, A.; OLAGOKE, O. Lipid peroxidation and antioxidant defense enzymes in *Clarias gariepinus* as useful biomarkers for monitoring exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 182, n. 1–4, p. 205–213, 2011.

PEREIRA, P. C. G. et al. Sub-lethal effects of the pesticide imazalil on the earthworm *Eisenia andrei*: reproduction, cytotoxicity, and oxidative stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 33474–33485, 2020.

PÉREZ-LÓPEZ, M.; NÓVOA-VALIÑAS, M. C.; MELGAR-RIOL, M. J. Glutathione S-transferase cytosolic isoforms as biomarkers of polychlorinated biphenyl (Arochlor-1254) experimental contamination in rainbow trout. **Toxicology Letters**, v. 136, n. 2, p. 97–106, 2002.

POVINELLI, J; SOBRINHO, P. A. Introdução. In: GOMES, L.P (coord). **Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. p. 19 – 25.

PRESTES, J. G. et al. Biomarkers of oxidative stress and cell damage in freshwater bivalves *Diplodon parodizi* exposed to landfill leachate.

Environmental Science and Pollution Research, v. 27, n. 22, p. 28384–28395, 2020.

RAMIRES, M. F. et al. Enzyme assays and toxicity of pig abattoir waste in *Eisenia andrei*. **Environmental Pollution**, v. 260, 2020.

RAO, J. V; PAVAN, Ã. Y. S; MADHAVENDRA, S. S. Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia fetida*, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 296–301, 2003.

REHMAN, K. et al. Floating treatment wetlands as biological buoyant filters for wastewater reclamation. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n. 13, p. 1273–1289, 2019.

REIS, B. G. **Avaliação da eficiência de processos avançados na remoção de toxicidade de lixiviado de aterro sanitário**. 2014. 152 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2014.

RENOU, S. et al. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 3, p. 468–493, 2008.

RIO GRANDE DO SUL. CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - CONSEMA. Resolução nº 355, de 13 de julho de 2017. Dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial do Estado**, Rio Grande do Sul, 19 jul., 2017. 7 p.

SÁ;, L. F. DE; JUCÁ;, J. F. T.; SOBRINHO, M. A. DA M. Tratamento do lixiviado de aterro sanitário usando destilador solar. **Revista Ambiente e Agua**, v. 9, n. 3, p. 445–458, 2014.

SAGGIORO, E. M. et al. Lethal and sublethal effects of acetamiprid on *Eisenia andrei*: Behavior, reproduction, cytotoxicity and oxidative stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, n. March, p. 109572, 2019.

SALES JUNIOR, S. F. et al. Lethal and long-term effects of landfill leachate on *Eisenia andrei* earthworms: Behavior, reproduction and risk assessment. **Journal of Environmental Management**, v. 285, n. December 2020, 2021a.

SALES JUNIOR, S. F. et al. Lethal and long-term effects of landfill leachate on *Eisenia andrei* earthworms: Behavior, reproduction and risk assessment. **Journal of Environmental Management**, v. 285, 1 maio 2021b.

SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Volume 188 ed. [s.l: s.n.].

SCHIOPU, A. M.; GAVRILESCU, M. Options for the Treatment and Management of Municipal Landfill Leachate: Common and Specific Issues. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 38, n. 12, p. 1101–1110, 2010.

SILVA, D. C. V. R. DA; POMPÊO, M.; PAIVA, T. C. B. DE. A ecotoxicologia no Contexto atual no Brasil. **Ecologia de reservatórios e interfaces**, p. 340–353, 2015.

SILVA, R. A. DA et al. Tratamento de lixiviado de aterro sanitário por meio de evaporação via destilação simples em escala de bancada. *In*: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 30, 2019, Natal, RN, **Anais eletrônicos** [...]. Rio Grande do Norte: ABES, 2019.

SILVA, R. A. DA. **Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário por meio de Destilação Simples**. 2019. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2019.

SILVA, S. A. DA. **Geotêxteis como Elementos Redutores da Capacidade Poluente de Chorumes**. 2014. 117 f. Tese (Doutorado em Geotecnia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2014.

SISINNO, C. L. S; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Fundamentos da Toxicologia Ambiental. *In*: _____(org). **Princípios da Toxicologia Ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2013. p 17-26.

ŚLESIAK, I. et al. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. **Acta Biochimica Polonica**, v. 54, n. 1, p. 39–50, 2007.

SONG, J. et al. **A pilot-scale study on the treatment of landfill leachate by a composite biological system under low dissolved oxygen conditions: Performance and microbial community**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2020. v. 296

SONG, P. et al. Ecotoxicological effects of fertilizers made from pulping waste liquor on earthworm *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, n. May, p. 237–241, 2018.

SONG, P. et al. Phthalate induced oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*). **Environment International**, v. 129, n. May, p. 10–17, 2019.

SOROLDONI, S. et al. Spent lubricant oil-contaminated soil toxicity to *Eisenia andrei* before and after bioremediation. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 2, p. 212–221, 2019.

STENESH, J. Lipids and Membranes. **Biochemistry**, p. 141-169, 1998.

STORCK, T. R. **Avaliação da contaminação de um rio utilizado para abastecimento humano por meio de biomarcadores de toxicidade**. 2019. 117f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2019.

STORCK, T. R. et al. Toxicity evaluation of landfill leachate after treatment by simple distillation using *Danio rerio* biomarkers. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 174, n. November 2022, p. 243–252, 2023.

VAVERKOVÁ, M. D. Landfill impacts on the environment— review. **Geosciences (Switzerland)**, v. 9, n. 10, p. 1–16, 2019.

VEIHMEYER, F.J; HENDRICKSON, A.H. The application of some basic concepts of soil moisture to orchard irrigation. **Proc. Wash. State Hort. Assoc.** 45: 25– 4, 1949.

VELKI, M.; HACKENBERGER, B. K. Biomarker responses in earthworm *Eisenia andrei* exposed to pirimiphos-methyl and deltamethrin using different toxicity tests. **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1216–1226, 2013.

VELIKOVA, V; YORDANOV, I; EDREVA, A. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Poly-amines. **Plant Science**, v. 151, p. 59-66, 2000.

WALKER, C. H. **Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants.** **Functional Ecology**, v. 4, n. 3, p. 295–301, 1990.

WALKER, C. H. et al. R.M. Sibly , R.M. Sibly , D.B. Peakall. **Principles of ecotoxicology**. 3. ed. New York: CRC Press, 2005.

WANG, C. R. et al. Hormesis effects and implicative application in assessment of lead-contaminated soils in roots of *Vicia faba* seedlings. **Chemosphere**, v. 80, n. 9, p. 965–971, 2010.

WANG, G. et al. Oxidative Damage and Genetic Toxicity Induced by DBP in Earthworms (*Eisenia fetida*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, n. 4, p. 527–538, 2018.

WANG W; BALLATORI N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. **Pharmacol Ver**, v. 50, p. 335–356, 1998.

WIJEKOON, P. et al. Progress and prospects in mitigation of landfill leachate pollution: Risk, pollution potential, treatment and challenges. **Journal of Hazardous Materials**, v. 421, n. February 2021, p. 126627, 2022.

XING, W. et al. **Stable-Isotope Probing Reveals the Activity and Function of Autotrophic and Heterotrophic Denitrifiers in Nitrate Removal from Organic-Limited Wastewater.** [s.l: s.n.]. v. 52

XYDIS, G.; NANAKI, E.; KORONEOS, C. Exergy analysis of biogas production from a municipal solid waste landfill. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 4, p. 20–28, 2013.

- YAN, X. et al. Oxidative stress, growth inhibition, and DNA damage in earthworms induced by the combined pollution of typical neonicotinoid insecticides and heavy metals. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 141873, 2021a.
- YAN, Z. et al. Evaluation of applying membrane distillation for landfill leachate treatment. **Desalination**, v. 520, n. June, p. 115358, 2021b.
- YANG, G. et al. Joint toxicity of chlorpyrifos, atrazine, and cadmium at lethal concentrations to the earthworm *Eisenia fetida*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 12, p. 9307–9315, 2015.
- ZELIC, M. A. Avaliação do processo de destilação do percolado de aterro em função dos parâmetros estabelecidos pela Resolução CONAMA 430. 2017.
- ZHANG, Q. et al. Toxicological effects of soil contaminated with spirotetramat to the earthworm *Eisenia fetida*. **Chemosphere**, v. 139, p. 138–145, 2015.
- ZHANG, Q. Q. et al. Investigation on characteristics of leachate and concentrated leachate in three landfill leachate treatment plants. **Waste Management**, v. 33, n. 11, p. 2277–2286, 2013.
- ZHOU, C. F. et al. Does glyphosate impact on Cu uptake by, and toxicity to, the earthworm *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 8, p. 2297–2305, 2012.