



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO  
EMPREGANDO BIOENSAIOS EM *ALLIUM CEPA***

KETLYN JAQUELIZE LIMA SOUSA

Campina Grande – PB

2024

KETLYN JAQUELIZE LIMA SOUSA

**DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO  
EMPREGANDO BIOENSAIOS EM *ALLIUM CEPA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Engenharia Civil e Ambiental.

**Área de concentração:** Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental

**Orientador:** Márcio Camargo de Melo

**Coorientadora:** Libânia da Silva Ribeiro

Campina Grande – PB

2024

S725d

Sousa, Ketlyn Jaquelize Lima.

Determinação da toxicidade do lixiviado de aterro sanitário empregando bioensaios em *Allium cepa* / Ketlyn Jaquelize Lima Sousa. – Campina Grande, 2024.

97 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental.) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2024.

"Orientação: Prof. Dr. Márcio Camargo de Melo, Profa. Dra. Libânia da Silva Ribeiro".

Referências.

1. Lixiviado de Aterro Sanitário. 2. Resíduos Sólidos Urbanos. 3. Efluente. 4. Toxicidade – Fitotoxicidade – Genotoxicidade e Mutagenicidade. 5. Recursos Hídricos. 6. Saneamento Ambiental. I. Melo, Márcio Camargo de. II. Ribeiro, Libânia da Silva. III. Título.

CDU 628.472.3(043)

KETLYN JAQUELIZE LIMA SOUSA

DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DO LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO  
EMPREGANDO BIOENSAIOS EM *ALLIUM CEPA*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Engenharia Civil e Ambiental.

Aprovado em: 26/02/2024

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Márcio Camargo de Melo  
Universidade Federal de Campina Grande  
**Orientador**

Prof. Dra. Libânia da Silva Ribeiro  
Universidade Federal de Campina Grande  
**Coorientadora**

Elis Gean Rocha  
Universidade Federal de Campina Grande  
**Examinadora Interna**

Daniela Lima Machado da Silva  
Universidade Federal do Ceará  
**Examinadora Externa**

Márbara Vilar de Araújo Almeida  
Universidade Federal de Campina Grande  
**Examinadora Externa**

Campina Grande – PB  
2024



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
POS-GRADUACAO ENGENHARIA CIVIL AMBIENTAL  
Rua Aprigio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

## REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

- ATA DA DEFESA PARA CONCESSÃO DO GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**
- ALUNO(A): KETLYN JAQUELIZE LIMA SOUSA / COMISSÃO EXAMINADORA: DR. MÁRCIO CAMARGO DE MELO - PPGECA/UFCG (PRESIDENTE) - ORIENTADOR, DR.ª LIBÂNIA DA SILVA RIBEIRO - COORIENTADORA, DR.ª ELIS GEAN ROCHA – EXAMINADORA INTERNA, DR.ª MÁRBARA VILAR DE ARAÚJO ALMEIDA – UFCG/GGA – EXAMINADORA EXTERNA, DR.ª DANIELA LIMA MACHADO DA SILVA – UFC – EXAMINADORA EXTERNA (PORTARIA 11/2024). / TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: “TOXICIDADE DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO POR MEIO DA INVESTIGAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO” / ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO AMBIENTAL / HORA DE INÍCIO: 14:00 HORAS / NA SALA DE CONFERÊNCIA DO LABORATÓRIO DE ENGENHARIA PAVIMENTOS, BLOCO CT, CAMPUS SEDE DA UFCG, EM CAMPINA GRANDE, DE FORMA HÍBRIDA.**
- EM SESSÃO REALIZADA EM FORMATO HÍBRIDO, APÓS EXPOSIÇÃO DE CERCA DE 40 MINUTOS, O(A) CANDIDATO(A) FOI ARGUIDO(A) ORALMENTE PELOS MEMBROS DA COMISSÃO EXAMINADORA, TENDO DEMONSTRADO SUFICIÊNCIA DE CONHECIMENTO E CAPACIDADE DE SISTEMATIZAÇÃO NO TEMA DE SUA DISSERTAÇÃO, SENDO-LHE ATRIBUÍDA O CONCEITO “EM EXIGÊNCIA”, SENDO QUE A POSSIBILIDADE DE APROVAÇÃO ESTÁ CONDICIONADA À AVALIAÇÃO DA NOVA VERSÃO DO TRABALHO FINAL, SEGUINDO PROCEDIMENTOS PREVISTOS NA RESOLUÇÃO DO PROGRAMA. O PRESIDENTE DA COMISSÃO EXAMINADORA, OUVIDOS OS DEMAIS MEMBROS, DEVERÁ FICAR RESPONSÁVEL POR ATESTAR QUE AS CORREÇÕES SOLICITADAS NA LISTA DE EXIGÊNCIAS FORAM ATENDIDAS NA VERSÃO FINAL DO TRABALHO. A COMISSÃO EXAMINADORA CUMPRINDO OS PRAZOS REGIMENTAIS, ESTABELECE UM PRAZO MÁXIMO DE 30 DIAS PARA QUE SEJAM FEITAS AS ALTERAÇÕES EXIGIDAS. APÓS O DEPÓSITO FINAL DO DOCUMENTO DE DISSERTAÇÃO, DEVIDAMENTE REVISADO E MEDIANTE ATESTADO DO ORIENTADOR, O CONCEITO "EM EXIGÊNCIA" PASSARÁ IMEDIATAMENTE PARA O DE “APROVADO”. NA FORMA REGULAMENTAR, FOI LAVRADA A PRESENTE ATA, QUE É ASSINADA POR MIM, FLÁVIO PEREIRA DA CUNHA, SECRETÁRIO(A), ALUNO(A) E OS MEMBROS DA COMISSÃO EXAMINADORA PRESENTES.**
- CAMPINA GRANDE, 26 DE FEVEREIRO 2024**



Documento assinado eletronicamente por **KETLYN JAQUELIZE LIMA SOUSA, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 13:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elis Gean Rocha, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 14:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARCIO CAMARGO DE MELO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/03/2024, às 14:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Marbara Vilar de Araújo Almeida, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 14:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Libânia da Silva Ribeiro, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 18:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **DANIELA LIMA MACHADO DA SILVA, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 18:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **FLAVIO PEREIRA DA CUNHA, SECRETÁRIO (A)**, em 03/03/2024, às 12:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **4191213** e o código CRC **3AD68B56**.

---

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, saúde, sabedoria e por permitir e abençoar que meus objetivos fossem alcançados e por ser meu alicerce durante todos os obstáculos encontrados durante os dois anos de mestrado.

Aos meus pais, Erildo e Josinete, que me trouxeram ao mundo e me deram a oportunidade e incentivo para estudar, mesmo tendo que me mudar para o outro lado do país.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Márcio Camargo de Melo, que me auxiliou durante a elaboração deste estudo, nas etapas de laboratório e compartilhou seus conhecimentos.

À minha coorientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Libânia da Silva Ribeiro, que também compartilhou seus conhecimentos e me auxiliou em todas as etapas da pesquisa, estando presente e incentivando, além de motivar nos momentos em que pensei que não fosse conseguir, e estar sempre disposta a ouvir/ajudar nos momentos em que mais precisei.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa, que compartilharam comigo tantos momentos de descobertas e aprendizado, pela troca de experiências e companheirismo, pessoas com quem convivi intensamente os dois últimos anos e contribuíram no meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Grupo de Geotecnia Ambiental (GGA) por ter disposto os recursos para a realização da pesquisa.

Aos integrantes do grupo de físico-química do GGA por terem me auxiliado na realização dos ensaios laboratoriais.

À administração do Aterro Sanitário em tudo, por ter permitido e disponibilizado o campo experimental para a realização desta pesquisa.

A todos os professores do PPGECA que contribuíram para a minha formação acadêmica durante o curso de mestrado.

À CAPES pelo financiamento de bolsa durante a realização do mestrado.

A todos que me incentivaram em algum momento durante o período do mestrado e acreditaram em mim quando nem eu mesma acreditava mais.

E por último, não menos importante, a mim mesma, por acreditar nos meus sonhos, nunca ter desistido e ter sido forte e persistente nos momentos mais difíceis.

O meu muito obrigada!

*“Si censuran tus ideas, ten valor*

*No te rindas nunca, siempre alza la voz”.*

*- Dulce María (trecho da canção No Pares - RBD)*

## RESUMO

O lixiviado de aterro sanitário é uma das principais fontes de contaminação ambiental, sendo composto por substâncias orgânicas, inorgânicas e recalcitrantes, podendo apresentar elevada toxicidade, ocasionando assim, riscos à saúde pública e ao meio ambiente, e somente as análises físico-químicas não são suficientes para determinar a toxicidade desse efluente. Assim, o objetivo desse trabalho foi determinar a toxicidade do lixiviado de Aterro Sanitário por meio da investigação do material genético. O experimento consistiu em coleta de amostra de lixiviado *in natura* no mês de dezembro de 2023. Após a coleta, foi realizada a caracterização físico-química dos parâmetros orgânicos (DBO<sub>5</sub> e DQO), parâmetros inorgânicos (pH, alcalinidade total, temperatura, AGV, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NAT, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), metais essenciais (Ca, Cu, Fe, P, Mg, Mn, Ni, K e Zn) e metais pesados (Al, As, Cd, Pb, Co, Cr, Hg e U), como também a realização de bioensaios toxicológicos utilizando o sistema-teste *Allium cepa*. Além disso, foram realizadas ainda, uma análise estatística dos resultados, a fim de garantir a integridade dos dados. Os resultados da caracterização físico-química mostraram que o lixiviado apresentou um pH alcalino e elevadas concentrações de AGV, NAT, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, DBO<sub>5</sub>, DQO, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e metais como, Ca, Fe, P, Mg, Mn, Zn, Al e Cr, os quais contribuíram na toxicidade do lixiviado. Para o ensaio toxicológico, foram utilizadas amostras controle (positivo e negativo), e o lixiviado em cinco concentrações (1%, 5%, 10%, 15% e 100%). A Fitotoxicidade foi determinada pelo Índice de Germinação (IG), a Genotoxicidade pelo Índice de Alteração Cromossômica (CAI) e a Mutagenicidade pelo Índice de Mutagenicidade (MutI). Os resultados dos ensaios de fitotoxicidade mostram que o lixiviado apresentou alta fitotoxicidade nas concentrações de 15% (IG<50%) e 100% (não houve germinação), fitotoxicidade moderada nas concentrações 5% e 10% (IG 62,73% e 65,25%), e efeito estimulante em 1% (IG 136,46%). Os resultados da genotoxicidade apontaram que o lixiviado é genotóxico em todas as diluições analisadas, pois apresentaram alterações cromossômicas significativas (p<0,05) ao controle negativo. Já os resultados da mutagenicidade indicaram que o lixiviado é mutagênico em concentrações superiores à 10%, apresentando frequência de micronúcleos significativos (p<0,05) em relação ao controle negativo. Conclui-se que o lixiviado é tóxico mesmo que em baixas concentrações e pode provocar alterações no DNA de indivíduos expostos a esse contaminante.

**Palavras-chave:** Resíduos Sólidos Urbanos, efluente, toxicidade, fitotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.

## ABSTRACT

Landfill leachate is one of the main sources of environmental contamination, being composed of organic, inorganic and recalcitrant substances, which can present high toxicity, thus causing risks to public health and the environment, and only physical-chemical analyzes are not sufficient to determine the toxicity of this effluent. Thus, the objective of this work was to determine the toxicity of landfill leachate through the investigation of genetic material. The experiment consisted of collecting a fresh leachate sample in December 2023. After collection, the physicochemical characterization of organic parameters (BOD<sub>5</sub> and COD), inorganic parameters (pH, total alkalinity, temperature, AGV, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NAT, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), essential metals (Ca, Cu, Fe, P, Mg, Mn, Ni, K and Zn) and heavy metals (Al, As, Cd, Pb, Co, Cr, Hg and U), as well as carrying out toxicological bioassays using the *Allium cepa* test system. Furthermore, a statistical analysis of the results was also carried out in order to guarantee the integrity of the data. The results of the physicochemical characterization showed that the leachate had an alkaline pH and high concentrations of VFA, NAT, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BOD<sub>5</sub>, COD, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> and metals such as Ca, Fe, P, Mg, Mn, Zn, Al and Cr, which contributed to the toxicity of the leachate. For the toxicological test, control samples (positive and negative) and leachate in five concentrations (1%, 5%, 10%, 15% and 100%) were used. Phytotoxicity was determined by the Germination Index (GI), Genotoxicity by the Chromosome Alteration Index (CAI) and Mutagenicity by the Mutagenicity Index (MutI). The results of the phytotoxicity tests show that the leachate presented high phytotoxicity at concentrations of 15% (GI<50%) and 100% (no germination), moderate phytotoxicity at concentrations 5% and 10% (GI 62.73% and 65 .25%), and stimulating effect in 1% (GI 136.46%). The genotoxicity results showed that the leachate is genotoxic in all dilutions analyzed, as it presented significant chromosomal changes (p<0.05) compared to the negative control. The mutagenicity results indicated that the leachate is mutagenic at concentrations greater than 10%, showing a frequency of significant micronuclei (p<0.05) in relation to the negative control. It is concluded that the leachate is toxic even in low concentrations and can cause changes in the DNA of individuals exposed to this contaminant.

**Keywords:** Municipal Solid Waste, effluent, toxicity, phytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Layout de aterro sanitário .....	4
Figura 2: Fases da biodegradação dos resíduos sólidos em aterro sanitário .....	6
Figura 3: Grupos de poluentes constituintes do lixiviado .....	9
Figura 4: Estimativa da Composição Gravimétrica média dos Resíduos Sólidos Urbanos coletados no Brasil .....	16
Figura 5: Variação da alcalinidade em função do pH .....	20
Figura 6: Estrutura do DNA .....	26
Figura 7: Fases do ciclo celular .....	27
Figura 8: Fases da divisão celular .....	28
Figura 9: Aberrações Cromossômicas no processo de mitose em células de <i>Allium cepa</i> .....	28
Figura 10: Formação de uma célula micronucleada.....	36
Figura 11: Fluxograma das etapas metodológicas .....	39
Figura 12: Mapa de localização da área de estudo.....	40
Figura 13: Comparativo da Composição Gravimétrica do Brasil e Aterro Sanitário em estudo .....	41
Figura 14: Mapa de localização das Células e Lagoas de Acumulação do Lixiviado .....	42
Figura 15: Esquema ilustrativo da análise de fitotoxicidade em sementes de <i>Allium cepa</i> .....	44
Figura 16: Esquema ilustrativo da análise de fitotoxicidade em bulbos de <i>Allium cepa</i> .....	45
Figura 17: Fluxograma da análise multicritério .....	46
Figura 18: Fluxograma das etapas metodológicas dos bioensaios.....	49
Figura 19: Germinação dos bulbos.....	49
Figura 20: Esquema ilustrativo da análise biológica.....	50
Figura 21: Testes metodológicos em sementes e bulbos de <i>Allium cepa</i> .....	53
Figura 22: Resultados da fitotoxicidade dos testes metodológicos.....	55
Figura 23: Relação do pH com ácidos graxos voláteis do lixiviado do Aterro Sanitário em estudo no ano de 2023 .....	60
Figura 24: Relação do pH com as concentrações de alcalinidade total e nitrogênio amoniacal total no lixiviado do Aterro Sanitário em estudo no ano de 2023 .....	61
Figura 25: Fitotoxicidade do lixiviado em bulbos de <i>Allium cepa</i> .....	65
Figura 26: Crescimento das raízes dos bulbos de <i>Allium cepa</i> .....	66
Figura 27: Gráfico descritivo do CAI nas amostras controle negativo e positivo .....	68
Figura 28: Gráficos descritivos do CAI nas amostras de lixiviado e controle negativo .....	69

Figura 29: Alterações celulares encontradas nas células de *Allium cepa* exposta ao lixiviado 70

Figura 30: Gráficos descritivos do MutI nas amostras de lixiviado e controle negativo ..... 71

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização do lixiviado durante as fases da estabilização biológica .....	7
Tabela 2: Características do lixiviado de acordo com a idade do aterro sanitário .....	8
Tabela 3: Composição do lixiviado de aterro sanitário em regiões de clima semiárido .....	13
Tabela 4: Metais Pesados presentes na fração orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos .....	23
Tabela 5: Ensaio físico-químico realizado .....	47
Tabela 6: Ensaio de metais pesados realizado .....	48
Tabela 7: Resultados das análises físico-químicas dos testes metodológicos.....	54
Tabela 8: Ranking dos testes metodológicos obtido pelo método TOPSIS.....	56
Tabela 9: Caracterização do lixiviado .....	57
Tabela 10: Resultados Índices de Genotoxicidade e Mutagenicidade .....	68

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Principais fatores que influenciam na composição do lixiviado .....	11
Quadro 2: Classificação dos elementos químicos em função da toxicidade .....	22
Quadro 3: Estudo de fitotoxicidade com diversas culturas .....	25
Quadro 4: Diluição das amostras .....	43
Quadro 5: Concentrações do lixiviado na análise de fitotoxicidade e análises biológicas .....	65

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Entropia de Shannon .....	38
Equação 2: Germinação Relativa das Raízes .....	44
Equação 3: Crescimento Relativo das Raízes .....	44
Equação 4: Índice de Germinação.....	44
Equação 5: Índice de Alterações Cromossômicas.....	52
Equação 6: Índice de Mutagenicidade .....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E NOMENCLATURAS

ABNT	ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS
AC	ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS
AGV	ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS
AT	ALCALINIDADE TOTAL
CAI	ÍNDICE DE ALTERAÇÃO CROMOSSÔMICA
CETESB	COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO
COT	CARBONO ORGÂNICO TOTAL
CRR	CRESCIMENTO RELATIVO DAS RAÍZES
DBO	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO
DQO	DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO
FEAM	FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE
GGA	GRUPO DE GEOTECNIA AMBIENTAL
GRR	GERINAÇÃO RELATIVA DAS RAÍZES
IBGE	INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
IDH	ÍNDICE DE DESENVOLVIMENTO HUMANO
IG	ÍNDICE DE GERMINAÇÃO
IPT	INSTITUTO DE PESQUISAS
LAL	LAGOA DE ACUMULAÇÃO DO LIXIVIADO
MN	MICRONÚCLEO
MUTI	ÍNDICE DE MUTAGENICIDADE
NAT	NITROGÊNIO AMONÍACAL TOTAL
NH <sub>3</sub>	AMÔNIA LIVRE
N-NH <sub>3</sub>	NITROGÊNIO AMONÍACAL
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	AMÔNIA IONIZADA
PH	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO
PNRS	POLÍTICA NACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS
RSU	RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS
UFMG	UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Aterros Sanitários de Resíduos Sólidos Urbanos</b> .....	<b>4</b>
<b>3.2</b>	<b>Biodegradação dos Resíduos Sólidos Urbanos em Aterros Sanitários</b> .....	<b>5</b>
<b>3.3</b>	<b>Lixiviado de Aterro Sanitário</b> .....	<b>9</b>
<b>3.4</b>	<b>Toxicidade</b> .....	<b>14</b>
<b>3.4.1</b>	<b><i>Fatores Intervenientes na toxicidade do lixiviado</i></b> .....	<b>15</b>
<b>3.4.1.1</b>	<i>Composição Gravimétrica</i> .....	<i>15</i>
<b>3.4.1.2</b>	<i>Potencial Hidrogeniônico (pH)</i> .....	<i>16</i>
<b>3.4.1.3</b>	<i>Nitrogênio Amoniacal Total (NAT)</i> .....	<i>17</i>
<b>3.4.1.4</b>	<i>Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>)</i> .....	<i>18</i>
<b>3.4.1.5</b>	<i>Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i> .....	<i>19</i>
<b>3.4.1.6</b>	<i>Alcalinidade Total (AT)</i> .....	<i>19</i>
<b>3.4.1.7</b>	<i>Cloreto</i> .....	<i>20</i>
<b>3.4.1.8</b>	<i>Metais</i> .....	<i>21</i>
<b>3.5</b>	<b>Fitotoxicidade</b> .....	<b>24</b>
<b>3.6</b>	<b>Mitose</b> .....	<b>25</b>
<b>3.7</b>	<b>Genotoxicidade</b> .....	<b>28</b>
<b>3.8</b>	<b>Mutagenicidade</b> .....	<b>29</b>
<b>3.9</b>	<b>Métodos para avaliar a toxicidade</b> .....	<b>30</b>
<b>3.9.1</b>	<b><i>Sistema-teste Allium cepa</i></b> .....	<b>33</b>
<b>3.9.2</b>	<b><i>Aberrações Cromossômicas</i></b> .....	<b>35</b>
<b>3.9.3</b>	<b><i>Teste de Micronúcleo</i></b> .....	<b>35</b>

3.10	Análise Estatística .....	37
4	METODOLOGIA .....	39
4.1	Etapa 1 .....	39
4.1.1	<i>Caracterização da área de estudo</i> .....	39
4.1.2	<i>Definição do bioindicador</i> .....	43
4.1.3	<i>Teste metodológico</i> .....	43
4.2	Etapa 2 .....	45
4.2.1	<i>Análise multicritério</i> .....	45
4.3	Etapa 3 .....	46
4.3.1	<i>Procedimento experimental</i> .....	46
4.3.1.1	Coleta da amostra .....	46
4.3.1.2	Análise Físico-Química e Metais Pesados .....	47
4.3.1.3	Bioensaio toxicológico .....	48
4.4	Etapa 4 .....	51
4.4.1	<i>Análise Estatística</i> .....	51
4.5	Etapa 5 .....	51
4.5.1	<i>Caracterização do lixiviado</i> .....	51
4.5.2	<i>Determinação da fitotoxicidade e potencial genotóxico e mutagênico</i> .....	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	53
5.1	Definição do Bioindicador e Testes Metodológicos .....	53
5.2	Caracterização do lixiviado .....	57
5.3	Fitotoxicidade.....	65
5.4	Genotoxicidade e Mutagenicidade .....	67
6	CONCLUSÕES .....	74
	REFERÊNCIAS .....	75

# 1 INTRODUÇÃO

O lixiviado é um líquido percolado que apresenta odor desagradável, coloração escura e alta toxicidade (Silva, 2012). Quando não coletado e tratado corretamente, causa efeitos adversos à saúde pública e ao meio ambiente. Isso acontece devido ao lixiviado conter vários compostos tóxicos e genotóxicos aos organismos vivos, além de serem fontes de contaminação do solo e das águas superficiais e subterrâneas (Kjeldsen *et al.*, 2002; Klauck *et al.*, 2017).

A toxicidade do lixiviado de aterro sanitário é dependente da composição dos constituintes que compõem a massa sólida dos resíduos aterrados. Destaca-se que os Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) possuem em sua composição uma grande porcentagem de matéria orgânica, e devido ao processo de biodegradação, origina-se subprodutos como o biogás e o lixiviado. Considerando sua complexidade e alta concentração de poluentes, a avaliação de toxicidade do lixiviado deve ser realizada como um contaminante líquido completo (Zhu *et al.*, 2023).

Além das altas concentrações de poluentes convencionais, o lixiviado de aterro sanitário também contém poluentes emergentes (Bhatt *et al.*, 2022), e apresenta, portanto, efeitos tóxicos abrangentes, além de possuir efeitos tóxicos carcinogênicos e genotóxicos, devido ao acúmulo no ecossistema e na cadeia alimentar (Mukherjee e Tsai, 2014).

Dessa forma, a análise dos riscos ecotoxicológicos em lixiviado de aterros sanitários é comumente embasada por meio da caracterização físico-química do lixiviado, em que a ecotoxicidade em si não é ponderada. Logo, somente as análises físico-químicas isoladamente não são suficientes para determinar a toxicidade do lixiviado (Arunbabu, Indu e Ramasamy, 2017; Wdowczyk e Szymańska-Pulikowska, 2021; Silva, 2022), sendo assim, impossibilita identificar os contaminantes responsáveis pela toxicidade, em decorrência da complexidade e heterogeneidade do lixiviado.

Qualquer fenômeno (tóxico, citotóxico, genotóxico, mutagênico, carcinogênicos, teratogênicos ou estressores) que possa desordenar o comportamento dos indivíduos, dificultando sua atuação na população, pode promover impactos negativos sobre a reprodução desses organismos, ocasionando uma interferência no equilíbrio genético das populações e uma maior vulnerabilidade dos organismos e o decaimento da diversidade das espécies (Bickham *et al.*, 2000; Morandi, 2014).

Os organismos vivos, por sua vez, quando expostos a contaminantes, além de estarem sujeitos à diversas patologias, também estão expostos a riscos de potencial genotóxico e/ou mutagênico, caracterizados por qualquer tipo de dano à molécula de DNA (Martins *et al.*, 2017;

Costa *et al.*, 2018; Sposito *et al.*, 2019). Os métodos de detecção de genotoxicidade e mutagenicidade podem ser analisados por meio de medições de danos ao DNA e por possuírem efeitos de caráter genético podem influenciar diretamente nas futuras gerações, por meio da hereditariedade (Fiskesjö, 1985; Rank e Marques 2003; Ribeiro, Salvadori e Marques, 2003).

A identificação de substâncias capazes de provocar mutações tornou-se uma metodologia essencial na avaliação de segurança, isso porque agentes químicos capazes de induzir mutações podem potencialmente prejudicar a linhagem germinativa, acarretando distúrbios na fertilidade e mutações genéticas nas futuras gerações (Mortelmans e Zeiger, 2000).

Na literatura científica é observado uma diversidade de ensaios de toxicidade com diferentes organismos-teste. Cada um desses ensaios apresenta atributos próprios e avalia as respostas empregando inúmeras espécies. Desta forma, as intercorrências nas respostas dos organismos-teste podem ocorrer pela variação natural de propriedades físico-químicas do material analisado ou pelo grau de contaminação (Costa *et al.*, 2008; Magalhães e Ferrão Filho, 2008).

Assim, torna-se importante avaliar as respostas dos organismos expostos à poluição ambiental, principalmente, os potenciais efeitos mutagênicos, que provocam danos ao DNA, e que podem acarretar a uma mutação hereditária (Ribeiro e Marques, 2003), especialmente em lixiviado de aterro sanitário.

Entre os diversos ensaios de toxicidade empregados e descritos na literatura, o sistema-teste *Allium cepa* (cebola) tem tido bastante relevância e sendo utilizado por diferentes autores. Esse organismo tem se apresentado eficiente na análise de efeitos tóxicos e mutagênicos provocados pela poluição ambiental (Grant, 1978, 1982, 1994, 1999; Fiskesjö, 1985, 1988; Leme, 2007; Leme e Marin-Morales, 2009).

Considerando toda problemática exposta e a toxicidade do lixiviado de aterros sanitários, faz-se necessário análises que levem uma melhor compreensão dos efeitos tóxicos induzidos pelo efluente em questão, além do emprego dos ensaios no monitoramento ambiental, bem como a aplicação dos ensaios para subsídio ao tratamento do lixiviado, uma vez que, conhecer as propriedades físico-químicas e microbiológicas não são suficientes para compreender os efeitos tóxicos desse contaminante no ecossistema.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a toxicidade do lixiviado de aterro sanitário por meio de bioensaios em *Allium cepa*.

### **2.2 Objetivos Específicos**

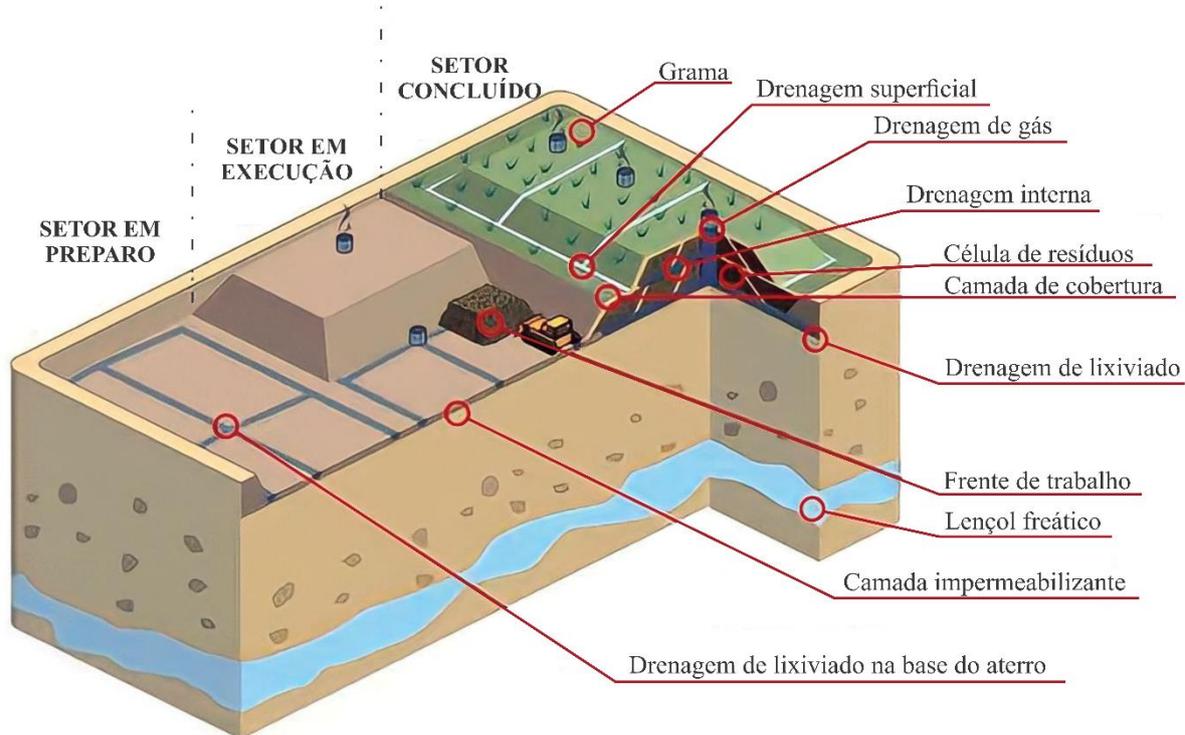
- Definir o bioindicador e o método de análise para os bioensaios toxicológicos em lixiviado de aterro sanitário.
- Verificar a idade do lixiviado analisado por meio de análises físico-químicas.
- Quantificar a fitotoxicidade do lixiviado ao bioindicador exposto ao lixiviado de aterro sanitário em diferentes concentrações.
- Determinar o potencial genotóxico e mutagênico do lixiviado de aterro sanitário por meio da observação das alterações cromossômicas do organismo exposto.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Aterros Sanitários de Resíduos Sólidos Urbanos

Os aterros sanitários são obras de engenharia que empregam técnicas de disposição final de resíduos sólidos no solo, baseada em critérios e normas operacionais, que permitem o confinamento seguro dos resíduos sólidos, sem causar danos à saúde pública e ao meio ambiente, empregando, para tal, medidas de mitigação dos impactos ambientais (ABNT, 1992; IPT, 2000).

Figura 1: Layout de aterro sanitário



Fonte: Adaptado IPT (2000)

Um aterro sanitário compreende um sistema devidamente preparado, englobando, sempre que necessário, determinados componentes e práticas operacionais, visando dispor os resíduos sólidos na menor área possível e reduzi-los ao menor volume permissível. E deve ser projetado e operado de forma a controlar as emissões de contaminantes no meio ambiente, com a finalidade de reduzir a possibilidade de poluição do solo, do ar e das águas superficiais e subterrâneas, além de eliminar impactos adversos na cadeia alimentar (ABNT, 1992; Boscov, 2008; FEAM, 2010).

Sendo considerado como principal forma de destinação final adequada de Resíduos Sólidos Urbanos (RSU), os aterros sanitários possuem alguns aspectos característicos, como baixo custo de implantação e operação, quando comparados com outras tecnologias (Monteiro, 2003; Boscov, 2008; Portella e Ribeiro, 2014).

### **3.2 Biodegradação dos Resíduos Sólidos Urbanos em Aterros Sanitários**

A biodegradação dos compostos orgânicos é um fenômeno integrado por mecanismos físico-químicos e biológicos, catalisados pela água presente nos resíduos, umidade inicial e águas pluviais, ocorrendo por meio do metabolismo anaeróbico realizado por microrganismos (Castilhos Júnior *et al.*, 2003).

Os microrganismos encontrados nos RSU dependem da fase de decomposição dos resíduos aterrados, assim como das condições da oxigenação do próprio ambiente, podendo ser aeróbios, anaeróbios ou facultativos, atuando primordialmente na fração orgânica dos resíduos (Maciel, 2003).

Dos subprodutos principais originários do processo de biodegradação dos RSU aterrados, o lixiviado pode apresentar uma carga orgânica de até 75 vezes maior do que a de esgotos domésticos, e que precisam ser coletados e tratados. Quando não é coletado e tratado corretamente, e exposto ao meio ambiente acarreta diversos impactos ambientais negativos, gerando um passivo ambiental (Tchobonoglous, Thiensen e Vigil, 1993; Von Sperling, 2005, Zuquette *et al.*, 2015; Gomes, 2017).

A biodegradação dos RSU é um processo lento e depende da composição de diversos substratos, comumente estabelecida em 5 fases distintas, que são denominadas em: a) fase inicial; b) fase de transição; c) formação ácida; d) fermentação metanogênica; e) maturação final (Pohland e Harper, 1985; Castilhos Júnior *et al.*, 2003). A Figura 2 apresenta a descrição dessas fases da biodegradação dos resíduos sólidos citadas por Pohland e Harper (1985) e Castilhos Júnior *et al.* (2003).

Figura 2: Fases da biodegradação dos resíduos sólidos em aterro sanitário



Fonte: Autora (2024)<sup>1</sup>

As fases da biodegradação em resíduos sólidos ocorrem simultaneamente em diferentes pontos do aterro sanitário (Filho, 2013). Embora o conhecimento das fases supracitadas auxilie no entendimento dos fenômenos de estabilização biológica dos RSU e sua atuação na formação e composição do lixiviado, durante a operação de um aterro sanitário não há essa divisão das fases de forma exata, porque as fases ocorrem concomitantemente nas diferentes camadas das células do aterro, devido à disposição diária dos resíduos sólidos, o que pode influenciar na qualidade do lixiviado gerado (Castilhos Júnior *et al.*, 2003).

A Tabela 1 apresenta a caracterização do lixiviado durante as fases da biodegradação dos resíduos sólidos urbanos em aterros sanitários descritos por Pohland e Harper (1986). A Fase 1 é caracterizada pelo aterramento de resíduos nas células, iniciando o processo de acúmulo na unidade, cobertura e compactação dos resíduos, conforme os autores citados.

<sup>1</sup> Imagem de autoria própria com base na citação de Pohland e Harper (1985) e Castilhos Júnior *et al.* (2003).

Tabela 1: Caracterização do lixiviado durante as fases da estabilização biológica

Parâmetros (mg.L <sup>-1</sup> )	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
pH (adimensional)	6,7	4,7 a 7,7	6,3 a 8,8	7,1 a 8,8
ST	2.050 a 2.450	4.120 a 55.300	2.090 a 6.410	1.460 a 4.640
DBO	100 a 10.900	1.000 a 57.700	600 a 3.400	4 a 120
DQO	480 a 18.000	1.500 a 71.100	580 a 9.760	31 a 900
AVT (mgHAc.L <sup>-1</sup> ) (*)	100 a 3.000	3.000 a 18.800	250 a 4.000	Ausente
Cobre	0,085 a 0,39	0,005 a 2,2	0,03 a 0,18	0,02 a 0,56
Ferro	68 a 312	90 a 2.200	115 a 336	4 a 20
Chumbo	0,001 a 0,004	0,01 a 1,44	0,01 a 0,10	0,01 a 0,10
Magnésio	66 a 96	3 a 1.140	81 a 505	81 a 190
Manganês	0,60	0,6 a 41	0,60	0,60
Níquel	0,02 a 1,55	0,03 a 79	0,01 a 1	0,07
Potássio	35 a 2.300	35 a 2.300	35 a 2.500	35 a 2500
Sódio	20 a 7.600	-	-	-
Zinco	0,06 a 21	0,65 a 220	0,40 a 6	0,40
Cádmio	190 a 490	70 a 3.900	76 a 490	76 a 254
Cromo	0,023 a 0,28	0,06 a 18	0,05	0,05
Cloreto	30 a 5.000	30 a 5.000	30 a 5.000	30 a 5.000
Sulfeto	Ausente	0 a 818	0,9	Ausente
Coliformes Totais (NNP/100 ml) (*)	100 a 105	100 a 105	Ausente	Ausente
Coliformes Fecais (NNP/100 ml) (*)	100 a 105	100 a 105	Ausente	Ausente

Legenda: (a) Parâmetros medidos em mg.L<sup>-1</sup>, com exceção dos indicados (\*)

Fonte: Pohland e Harper (1986)

As características e a variabilidade do lixiviado gerado em aterros são influenciados por diversos fatores, tais como: climatologia, tipologia dos resíduos aterrados, condições operacionais e estruturais do aterro sanitário, teor de umidade dos resíduos, idade do aterro, entre outros (Naveen *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2022). Esses fatores interferem diretamente e indiretamente na qualidade e quantidade do lixiviado gerado.

Dentre os fatores supracitados, a climatologia e a idade do aterro influenciam diretamente nas características físico-químicas e toxicológicas do lixiviado (Nascimento *et al.*,

2022). As características físico-químicas do lixiviado variam no decorrer da estabilização biológica dos resíduos aterrados, sendo que esses parâmetros possuem faixas típicas em associação com a idade do aterro, que se classificam em 03 estágios, sendo novo para aterros com idade inferior a 5 anos, intermediário com idade entre 5 a 10 anos e velho para acima de 10 anos, de acordo com Tabela 2, conforme Kjeldsen *et al.*, 2002; Foo e Hameed, 2009; Ahmed e Lan, 2012.

Tabela 2: Características do lixiviado de acordo com a idade do aterro sanitário

PARÂMETRO	NOVO	INTERMEDIÁRIO	VELHO
Idade (anos)	< 5,0	5,0 – 10,0	> 10,0
pH	6,5	6,5 – 7,5	> 7,5
DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	> 10.000	4.000 – 10.000	< 4.000
DBO <sub>5</sub> /DQO	> 0,6	0,1 – 0,6	< 0,1
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	< 400	Não aplica	> 400
Compostos orgânicos	80% ácidos graxos voláteis	5 – 30% ácidos graxos voláteis e ácidos fúlvicos	Ácidos húmicos e fúlvicos
Metais pesados	Baixo – médio	Baixo	Baixo
Biodegradabilidade	Alta	Média	Baixa

Fonte: Renou *et al.* (2008) e Ahmed e Lan (2012)

Os principais indicadores da idade do lixiviado são avaliados por meio das concentrações de Nitrogênio Amoniacal Total (NAT) e o pH (Araújo, 2019). Em aterros sanitários, o lixiviado pode ser classificado em “velho” e “novo”. O lixiviado velho apresenta baixa matéria orgânica, devido ao processo de decomposição dessa matéria. Já o lixiviado novo possui uma concentração de matéria orgânica maior quando comparado ao lixiviado velho, podendo ser observado altos valores de poluentes orgânicos (Ferreira, 2010; Bhalla, Saini e Jha, 2013; Programa Água Azul, 2015).

Esse lixiviado estando na fase ácida apresenta altos valores de matéria orgânica biodegradável e devido à estabilização biológica esses valores diminuem gradativamente e o pH apresenta valores baixos. Os ácidos graxos voláteis (AGV) constituem a maior parte da matéria orgânica do lixiviado, com Carbono Orgânico Total (COT) que apresenta valores de até 95% (Diamadopoulos, 1994).

O pH do lixiviado depende da concentração de ácidos presentes e da pressão parcial de CO<sub>2</sub> no biogás, que está em contato com o lixiviado (Tchobanoglous, Theisen E Vigil, 1993). Ferreira (2010) coletou amostras de lixiviado durante a fase ácida da decomposição e as análises desse efluente apresentaram valores de pH abaixo da neutralidade e altas concentrações de nutrientes, DBO<sub>5</sub>, DQO e metais pesados.

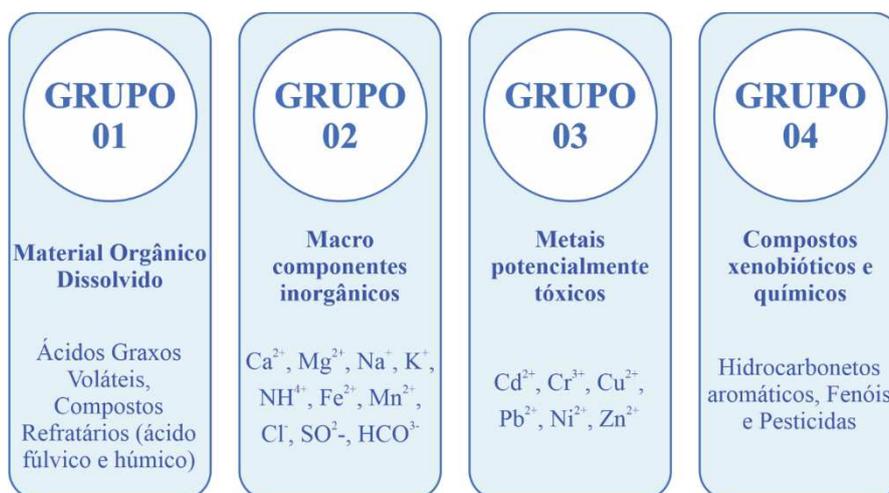
É importante frisar que as concentrações de metais pesados são menores, geralmente, na fase metanogênica, porque a maioria dos metais são menos solúveis em pH neutro e/ou alcalino (Tchobanoglous, Theisen & Vigil, 1993).

### 3.3 Lixiviado de Aterro Sanitário

O lixiviado é resultado do processo de infiltração da água pela cobertura do solo de um aterro sanitário, devido a quantidade de água excedente à capacidade de retenção da umidade dos resíduos sólidos (Senges, 1969; Tchobanoglous *et al.*, 1993; Araújo, 2017). É um efluente com alto potencial poluidor, devido às suas altas concentrações de carga orgânica, principalmente pela Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), podendo ocasionar a poluição e/ou contaminação dos solos e das águas superficiais e subterrâneas (Alonso, 2005; Araújo, 2019).

A Figura 3 apresenta os grupos de poluentes constituintes do lixiviado descritos por Kjeldsen *et al.*, (2002).

Figura 3: Grupos de poluentes constituintes do lixiviado



Fonte: Autora (2024)<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Imagem de autoria própria com base na citação de Kjeldsen *et al.*, (2002).

A geração do lixiviado possui três fontes principais: líquido constituinte do processo de degradativo dos materiais, umidade natural dos resíduos sólidos e líquidos derivados de materiais orgânicos expelidos por organismos (Reichert, 2000).

A qualidade do lixiviado é produto da interligação entre tipo e intensidade de decomposição do material orgânico presente no interior do maciço sanitário, a umidade do resíduo e balanço hídrico (Ehrig, 1983). Enquanto a quantidade depende de diversos fatores, como o clima, precipitação, escoamento superficial, temperatura e estações do ano, e ao sistema operacional, como o nível de compactação das camadas de RSU, profundidade e idade do aterro sanitário (Lisk, 1991; Segato, 2000; Souto e Povinelli, 2007; Castilhos Júnior, 2006).

A composição do lixiviado depende, entre outros, da natureza dos resíduos depositados e dos processos de decomposição em curso (Fatta *et al.*, 1999), do grau de estabilização dos resíduos aterrados, do sistema de drenagem, da localização do aterro e fatores hidrológicos (Kheradmand *et al.*, 2010; Fitzke *et al.*, 2013), tecnologia e idade de aterro (Xaypanya *et al.*, 2019).

O lixiviado apresenta em sua composição compostos tóxicos, como metais pesados e amônia, altas concentrações de matéria orgânica e inorgânica, biodegradável e recalcitrante, compostos nitrogenados, entre outros contaminantes, além do odor desagradável e coloração escura, sendo formada pela degradação do material orgânico (Christensen *et al.*, 2001; Dacanal e Beal, 2007).

Segundo Renou *et al.*, (2008); Salem *et al.*, (2008); Franco *et al.*, (2017), o lixiviado se apresenta como um efluente com alto potencial poluidor devido suas características físico-químicas, que possuem capacidade em causar danos nocivos ao meio ambiente, caso não seja tratado e descartado de forma adequada.

As características do lixiviado variam no decorrer do tempo, pois, à medida que o aterro de resíduos sólidos envelhece, sucede uma mudança de um curto período aeróbio para longo período de decomposição anaeróbia, que possui duas fases diferentes: a fase ácida e a fase metanogênica (Diamadopoulos, 1994). Devido às variações de suas características em função da localidade, vida útil do aterro, precipitação e clima, o lixiviado se torna um efluente peculiar.

O Quadro 1 apresenta os principais fatores que influenciam na composição do lixiviado.

Quadro 1: Principais fatores que influenciam na composição do lixiviado

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>FATOR</b>
Resíduos Sólidos	Composição, granulometria, umidade, idade do resíduo e pré-tratamento.
Aterro	Balanço hídrico, grau de compactação dos resíduos, recirculação de lixiviado, aspectos construtivos das células, co-disposição de resíduos líquidos.
Condições Ambientais	Geologia, pluviometria, climatologia, temperatura.
Processos Internos	Hidrólises, adsorção, biodegradação, tempo de contato, dissolução, diluição, troca iônica, geração e transporte de gás.

Fonte: Adaptado Moravia (2010)

Adhikari *et al* (2014), afirmam que a composição do lixiviado pode variar de acordo com a qualidade e idade dos resíduos sólidos aterrados, como também pelas condições climáticas e hidrogeológicas no local do aterro sanitário. Diante disso, cabe ressaltar que o lixiviado de diferentes aterros sanitários podem possuir características diferentes, mesmo que estejam situados em condições climáticas semelhantes, e ainda, no mesmo aterro, à medida que ocorre a estabilização biológica dos RSU, as características do lixiviado podem sofrer alterações significativas. De acordo com Ferreira (2010), essas alterações impossibilita o emprego de parâmetros pré-determinados em projetos de tratamento do lixiviado.

A Tabela 3 apresenta as características físico-químicas do lixiviado de diferentes aterros sanitários localizados em regiões de clima semiárido.

Tabela 3: Composição do lixiviado de aterro sanitário em regiões de clima semiárido

PARÂMETRO		UN.	BRASIL			IRÃ	NIGÉRIA	MARROCOS		OMÃ
			Mossoró	João Pessoa	Campina Grande	Hamedan	Akure	Marrakesh	Greater Agadir	Mascate
Orgânico	DBO <sub>5</sub>	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	6150	1163,2	5548,07	9217	102,17	11600	5300,15	13200
	DQO	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	11000	4929	10309,15	11920	125,42	19523,33	14560,7	33600
	DBO <sub>5</sub> /DQO	*	0,56	0,24	0,54	0,77	0,81	0,59	0,36	0,39
Inorgânico	pH	AD	8,69	8,0	8,3	8,00	5,82	6,8	8,1	8,54
	NAT	mg.N.L <sup>-1</sup>	-	3048	1289,44	-	-	6335,21	6149	4655
	Cloreto	mg.L <sup>-1</sup>	-	4076	5611,35	14200	62,24	-	-	7363
	Alcalinidade	mg.L <sup>-1</sup>	-	10141	7026,99	-	49,37	-	-	-
	Sólidos Totais	mg.L <sup>-1</sup>	31432	12685	17171	38900	-	-	-	26700
	Sólidos Voláteis	mg.L <sup>-1</sup>	-	3792	4728,57	-	-	-	-	605
	Fósforo Total	mg.L <sup>-1</sup>	51,81	21	19,12	-	-	-	-	1,06
Metal	Cr	mg.L <sup>-1</sup>	-	-	-	0,26	0,93	0,06	0,21	10,42
	Pb	mg.L <sup>-1</sup>	0,7	0,7	-	0,21	1,02	0,19	0,08	ND
	Zn	mg.L <sup>-1</sup>	0,09	-	-	13,84	0,05	0,17	0,21	ND
	Fe	mg.L <sup>-1</sup>	29	44,27	3,66	47,80	0,05	-	-	16,47
	Mn	mg.L <sup>-1</sup>	0,99	-	0,15	2,25	0,08	-	-	1,16
REFERÊNCIA			Filho <i>et al</i> (2017)	Silva <i>et al</i> (2019)	Gomes (2020)	Vahabian <i>et al</i> (2019)	Alabi <i>et al</i> (2019)	Zegzouti <i>et al</i> (2020)		Siddiqi <i>et al</i> (2022)

AD= adimensional; ND= não detectado.

Fonte: Autora (2024)

As variações na composição do lixiviado em diferentes aterros sanitários conforme apresentado na Tabela 3, mesmo que situados em condições climáticas semelhantes, pode-se justificar pela tipologia dos resíduos aterrados, pela idade do aterro e as diferentes fases da estabilização biológica dos resíduos, como também pela forma de operação do aterro e grau de compactação dos resíduos.

Maria (2010), analisou a variação da composição do lixiviado em diferentes aterros sanitários localizados na Região Metropolitana de Belo Horizonte/MG – Brasil, e em seu trabalho, os resultados obtidos apresentaram variação na maioria dos parâmetros analisados, mesmo que os aterros estejam situados na mesma região e condição climática.

### **3.4 Toxicidade**

A toxicidade de uma substância relaciona-se ao seu potencial de causar dano nocivo em um órgão determinado nos seres vivos, alterar os processos bioquímicos ou de um sistema enzimático, quando estes estão expostos às toxinas ou compostos tóxicos (Silveira e Azevedo, 2021; CETESB, 2023). De acordo com Ottoboni (1991), todas as substâncias, sendo elas natural ou sintética, são potencialmente tóxicas, pois podem induzir efeitos adversos à saúde em condições de exposição.

Os efeitos tóxicos de uma substância estão diretamente relacionados com as condições e tempo de exposição, pois dependem da dose e dos fatores de risco de cada indivíduo. Quando um organismo está exposto por um longo período à um agente pouco tóxico, este pode ocasionar efeitos crônicos ao organismo exposto. O inverso ocorre com os agentes muito tóxicos, que quando expostos a um indivíduo em um curto período pode acarretar uma intoxicação imediata e direcionar a um quadro clínico irreversível (Silveira e Azevedo, 2021).

Para a avaliação da toxicidade de uma substância, é essencial o conhecimento sobre o tipo de efeito e dosagem necessária para causá-lo, informações relativas às características ou propriedades do composto, bem como dados sobre a exposição e o indivíduo exposto (Dux e Stalzer, 1988).

### **3.4.1 Fatores Intervenientes na toxicidade do lixiviado**

#### **3.4.1.1 Composição Gravimétrica**

A composição gravimétrica dos RSU é um procedimento empregado para quantificar a tipologia dos resíduos gerados em uma determinada localidade (Silva, 2022).

O conhecimento da composição gravimétrica dos resíduos sólidos depositados em aterros sanitários é considerado um indicador indireto do grau de toxicidade do lixiviado gerado, e baseado nesse conhecimento, é possível presumir os compostos tóxicos que constituirão o lixiviado a ser gerado (Gomes, 2017).

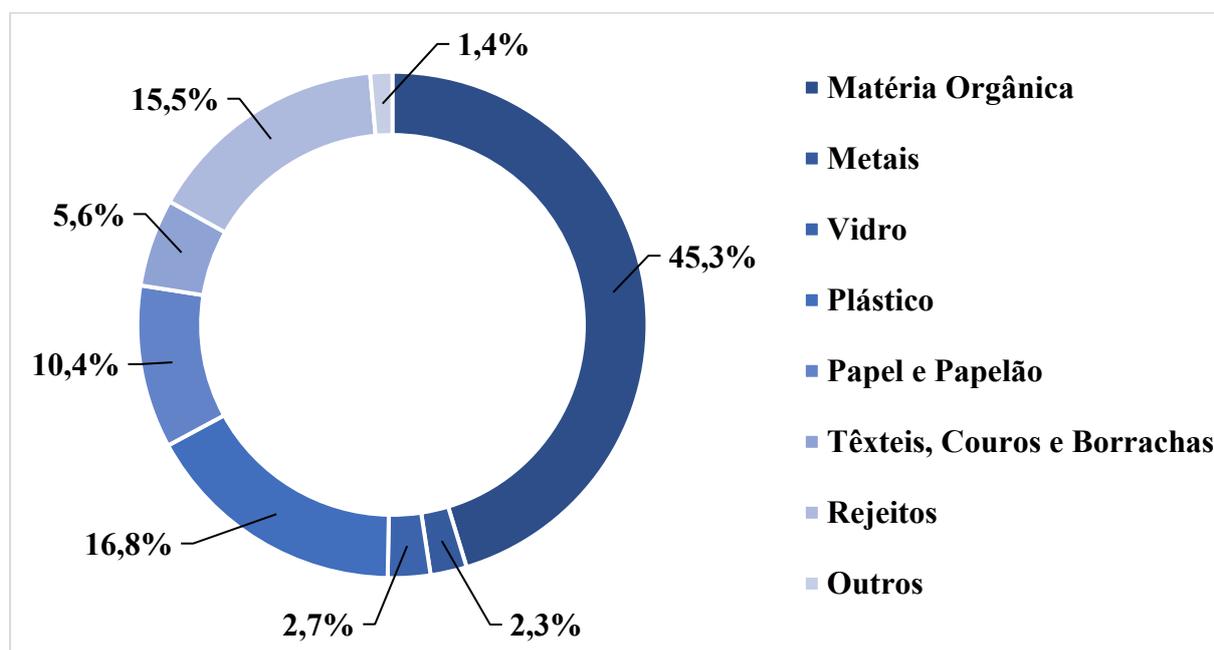
De acordo com Silva (2012), a ocorrência de compostos tóxicos no lixiviado de aterro sanitário, dependem, sobretudo, da composição dos RSU. Por isso, em virtude às particularidades dos resíduos sólidos, o lixiviado pode apresentar toxicidade e oferecer riscos ao meio ambiente e à saúde pública.

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), instituída pela Lei Federal nº 12.305 (Brasil, 2010), classifica os RSU como resíduos originários de atividades domésticas em residências urbanas e resíduos originários de varrição, limpeza de logradouros e vias públicas e outros serviços de limpeza urbana.

De acordo com o Plano Nacional de Resíduos Sólidos (Brasil, 2022), os RSU são compostos principalmente, por fração orgânica, abrangendo sobras e perdas de alimentos, resíduos verdes e madeiras, compondo cerca de 45,3%, conforme apresentada na Figura 2. Os resíduos recicláveis secos sendo compostos por plásticos, papel, papelão, vidro, metais e embalagens multicamadas, somam aproximadamente 33,6% e demais resíduos somam 21,1%, dentre os quais podem se destacar os resíduos têxteis, couros, borrachas e rejeitos.

De acordo com a Figura 4, é possível verificar a composição gravimétrica média dos Resíduos Sólidos Urbanos coletados no Brasil. Essa tipologia está diretamente associada às características do lixiviado gerado.

Figura 4: Estimativa da Composição Gravimétrica média dos Resíduos Sólidos Urbanos coletados no Brasil



Fonte: Adaptado BRASIL (2022)

Conhecer a tipologia e a composição gravimétrica dos RSU dispostos em aterros sanitários é imprescindível para a operação e monitoramento de um aterro sanitário, pois quando os RSU são aterrados, ocorre uma série de processos físico-químicos e biológicos, que originam o processo de biodegradação dos resíduos aterrados (Gomes, 2017), dando origem a dois subprodutos principais, o biogás e o lixiviado.

#### 3.4.1.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH é uma medida de concentração de íons de hidrogênio  $H^+$  em uma escala logarítmica, indicando as condições de acidez, neutralidade ou alcalinidade, e sua escala varia de 0 a 14 (Silva *et al.*, 2019). É um indicador relevante na biodegradação dos resíduos sólidos, em virtude de o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela decomposição estar diretamente relacionado às faixas predominantes de acidez ou alcalinidade (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

Durante a biodegradação dos resíduos aterrados, o pH é um parâmetro que evidencia as mudanças sucedidas no interior das células, possibilitando distinguir as fases da digestão anaeróbia dos resíduos sólidos (Alcântara, 2007), variando a medida em que acontece o processo de biodegradação dos RSU.

O pH afeta a atividade enzimática e a toxicidade de diversos compostos, como por exemplo a amônia, que em forma não ionizada apresenta maior toxicidade do que a forma ionizada por atingir a membrana celular com maior facilidade (Souto, 2009).

Por influenciar diretamente na solubilização de algumas substâncias, como os metais pesados, e quando associado com altas temperaturas pode favorecer a formação de amônia (N-NH<sub>3</sub>), que é tóxica aos organismos aquáticos, o pH apresenta uma relação direta com a toxicidade do lixiviado (Silva, 2012; Gomes, 2017; Silva 2022).

#### 3.4.1.3 Nitrogênio Amoniacal Total (NAT)

A amônia é a forma predominante de nitrogênio em lixiviado de aterro sanitário, estando em forma de amônia livre ou não ionizada (N-NH<sub>3</sub>) e amônia ionizada (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), onde a soma dessas duas formas resultam no Nitrogênio Amoniacal Total (NAT) (Reis e Mendonça, 2009; Campos et al., 2010; Silva, 2022). As concentrações das diferentes formas de amônia presentes no NAT sofrem variações em resposta ao pH, temperatura e salinidade (Gomes, 2017).

A matéria orgânica e o NAT são os elementos constituintes do lixiviado de aterro sanitário que apresentam maior preocupação (Kulikowska e Klimiuk, 2008). A biodegradação de aminoácidos e compostos orgânicos nitrogenados existentes no lixiviado durante a fase acetogênica resultam em altas concentrações de amônia (Ilies e Malvenic, 2001).

A elevada concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em condição anaeróbia é estável, pois, o lixiviado normalmente apresenta concentrações maiores do que 100 mg.L<sup>-1</sup> desse íon, apresentando então, toxicidade para os seres vivos (Silva *et al.*, 2019).

A amônia é uma substância tóxica e não cumulativa, que em baixas concentrações não causa danos ao meio ambiente, entretanto, quando está em elevadas concentrações pode provocar danos à fauna e flora, e em longo prazo pode desencadear problemas relacionados à reprodução e baixa fertilidade das espécies, mudanças na aparência e no comportamento dos indivíduos (Silva, 2022).

Além dos impactos ambientais no solo e na água, a contaminação por compostos nitrogenados pode resultar em adversidades à saúde dos seres humanos e geração de substâncias com potencial carcinogênico e mutagênico (Silva, 2016; Dasarathy *et al.*, 2017). Portanto, é de suma importância analisar a toxicidade dos lixiviados, uma vez que, esses apresentam elevadas concentrações de NAT em sua composição.

É importante destacar que nos aterros sanitários, por serem ambientes predominantemente anaeróbicos, são gerados lixiviados com baixas concentrações de nitrito e nitrato. Contudo, devido à intensa atividade biológica, a maior proporção de nitrogênio orgânico é transformada em nitrogênio amoniacal dentro do próprio aterro sanitário. Dessa forma, é possível encontrar elevadas concentrações de nitrogênio inorgânico no lixiviado, tais como, amônio, nitrito e nitrato, tendo o amônio o principal agente causador de toxicidade, e quantidades reduzidas de nitrogênio orgânico no lixiviado proveniente de aterro sanitário (Kim *et al.*, 2006; Mangimbulude *et al.*, 2009; Paredes, 2012; Klein *et al.*, 2017; Van Turnhut *et al.*, 2018; Peixoto *et al.*, 2018; Silva, 2022).

#### 3.4.1.4 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>)

A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>) é o método mais empregado para a determinação da matéria orgânica presente no lixiviado (Silva *et al.*, 2019). Esse parâmetro determina a quantidade de oxigênio utilizado na estabilização biológica da matéria orgânica presente em uma amostra (Pessoa e Jordão, 1995).

A capacidade de decomposição da matéria orgânica é definida pela biodegradabilidade do lixiviado, que é um dos principais parâmetros coletivos de classificação desse efluente, sendo baseado por meio da relação DBO<sub>5</sub>/DQO, podendo ser utilizado como indicativo de idade do aterro sanitário (El-Fadel *et al.*, 2002; Souto, 2009; Maler, 2013; Pertili, 2013; Silva *et al.*, 2019).

Segundo Wdowczyk e Szymańska-Pulikowska (2021), a carga poluidora do lixiviado é maior em aterros “novos”, por conter grandes quantidades de matéria orgânica e apresentar uma relação DBO<sub>5</sub>/DQO alta, variando entre 0,5 e 1,0, apresentando, portanto, uma alta biodegradabilidade. À medida que os resíduos aterrados for envelhecendo, haverá uma diminuição da relação DBO<sub>5</sub>/DQO, podendo-se observar valores <0,1 em aterros com mais de 10 anos de operação. Nesse caso, haverá predominância de matéria orgânica refratária e a concentração de ácidos graxo voláteis será muito baixa (Santos, 2020).

#### 3.4.1.5 *Demanda Química de Oxigênio (DQO)*

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) é o método empregado para determinar a quantidade de oxigênio consumido para oxidar a fração orgânica e inorgânica com potencial oxidável na amostra analisada (Nath e Debnath, 2022).

Valores elevados de DQO podem indicar que os processos degradativos dos resíduos aterrados ainda não estão estabilizados, mesmo em aterros não-operacionais (Wdowczyk e Szymańska-Pulikowska, 2021). Aterros não-operacionais são aqueles que não há mais a disposição de resíduos sólidos, entretanto, ainda possui potencial biodegradativo, inclusive com geração de líquidos e gases.

Ferreira (2010), afirma que o tempo de disposição dos resíduos pode influenciar diretamente a composição da DQO em lixiviados de aterros sanitários, e reitera que os componentes inorgânicos que compõem a DQO são:  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , sulfetos e cloretos.

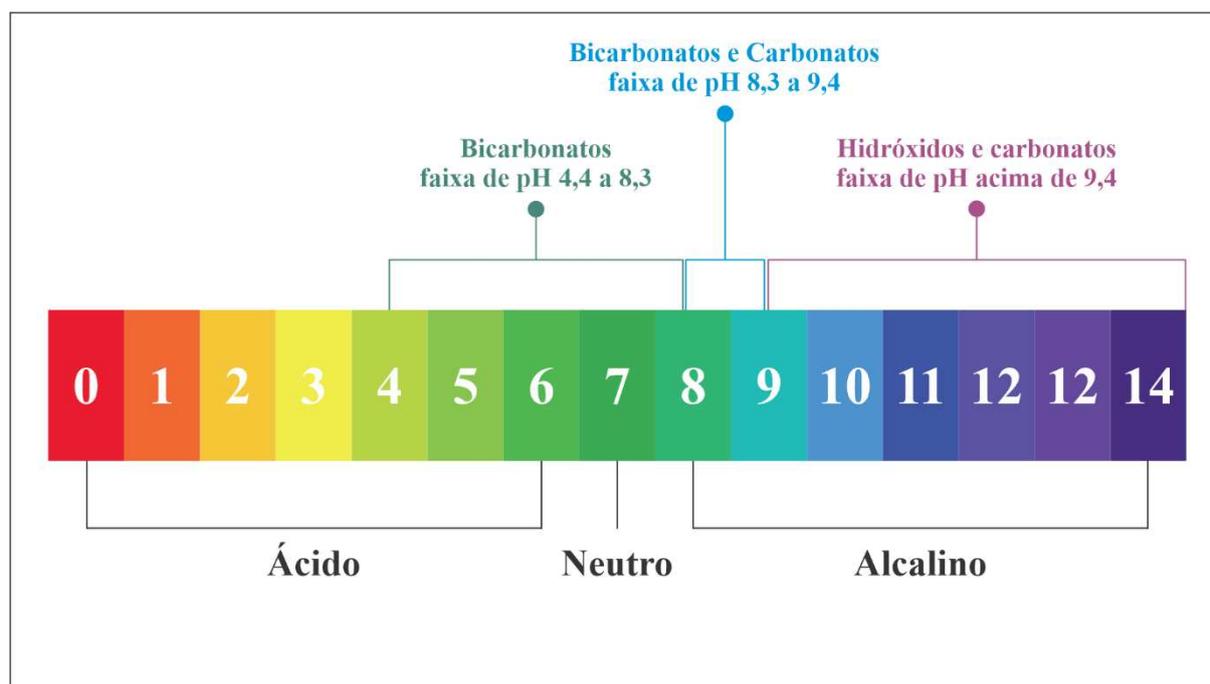
De acordo com Kayaalp *et al.*, (2010), a presença de cloretos na composição do lixiviado pode causar uma série de interferências nos métodos de determinação da matéria orgânica, como a DQO.

#### 3.4.1.6 *Alcalinidade Total (AT)*

A alcalinidade em efluentes resulta pela existência de hidróxidos ( $\text{OH}^-$ ), carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) de componentes como amônia, cálcio, potássio, magnésio, boratos, fosfatos, silicatos e ácidos fracos com  $\text{pK}_a > 4,3$  (Metcalf e Eddy, 2003; Ferreira, 2010; Libânio, 2016), entretanto, de acordo com Contrera (2008), a alcalinidade em lixiviados de aterros sanitários está diretamente relacionado às concentrações de NAT devido a amônia ser predominante na forma de bicarbonato de amônio.

De acordo com Silva *et al.*, (2019), a alcalinidade varia em função do pH, em que ocorre predominâncias em bicarbonatos, carbonatos ou hidróxidos de acordo em que há uma variação a faixa de pH, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5: Variação da alcalinidade em função do pH



Fonte: Autora (2024)<sup>3</sup>

A alcalinidade total (AT) em aterros sanitários, forma-se em decorrência da hidrólise de proteínas, liberando amônia gasosa ( $\text{NH}_3$ ), que em solução aquosa e na presença de gás carbônico, cria-se o bicarbonato de amônio (Speece, 1981; Monteiro, 2003; Gomes, 2017). Devido a esses fatores, a alcalinidade total de lixiviado de aterros sanitários é elevada.

De acordo com Clément e Merlin (1995) e Gomes (2017), a alcalinidade total e o nitrogênio amoniacal total são parâmetros que contribuem para a toxicidade do lixiviado. Destaca-se que em elevadas concentrações de alcalinidade, o lixiviado é mais alcalino, promovendo o aumento do potencial tóxico da  $\text{NH}_3^+$ . Por outro lado, quanto maior a alcalinidade total do meio, menor será a toxicidade do lixiviado por metais, em função desses componentes precipitarem na massa de resíduos.

#### 3.4.1.7 Cloreto

Os cloretos são íons resultantes da dissolução de minerais, apresentam elevada solubilidade e facilidade de lixiviação (Von Sperling, 1997; Oliveira *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019).

<sup>3</sup> Imagem de autoria própria com base na citação de Silva *et al.*, (2019).

De acordo com Wdowczyk e Szymańska-Pulikowska (2021), os contaminantes mais observados em lixiviados são os cloretos, os sulfatos, nitrogênio amoniacal e metais pesados. Sendo que os cloretos e sulfatos são resultado da lixiviação direta do aterro (Alemayehu *et al.*, 2019).

Oliveira (2019), observou em seu trabalho que o cloreto influencia na taxa de remoção de amônia. À medida que aumenta a concentração de cloreto, a cinética de degradação de nitrogênio amoniacal é favorecida.

Os íons de cloreto não corroboram na toxicidade para os microrganismos atuantes na biodegradação dos RSU em aterros sanitários. Entretanto, os sais de cloreto podem colaborar na solubilização de alguns metais, como chumbo, mercúrio e prata, formando complexos estáveis, acarretando a diminuição desses metais em forma solúvel no lixiviado (Chernicharo, 1997; Lange e Amaral, 2009; Moravia, 2010; Oliveira *et al.*, 2019).

De acordo com Pereira *et al.*, (2017), elevadas concentrações de cloreto em lixiviados pode estar relacionado com alta condutividade elétrica, que apresenta forte correlação com o nitrogênio amoniacal. Todavia, Naveen *et al.*, (2017), afirma que altas concentrações de cloreto em lixiviado refletem a presença de sais solúveis contido nos RSU em aterros sanitários.

Segundo Frikha *et al.*, (2017), a razão sulfato/cloreto igual a 0,31 reflete o grau de estabilização do lixiviado. A mudança dessa proporção leva à solubilidade dos cátions metálicos (Tatsi e Zouboulis, 2002). Dessa forma, o acompanhamento do comportamento da relação  $SO_4^{2-}/Cl^-$  é importante para compreender a toxicidade do lixiviado e/ou de efluentes líquidos.

#### 3.4.1.8 *Metais*

Os metais são classificados como essenciais ou não essenciais, a depender da sua concentração em relação à atuação no metabolismo dos seres vivos (Garcez, 2009).

Os metais essenciais são elementos que exercem funções metabólicas vitais nos organismos vivos, quando presentes em baixas concentrações, todavia, quando estão em elevadas concentrações, podem apresentar toxicidade (Lavradas, 2012). Enquanto, os metais não essenciais são tóxicos por não desempenharem funções metabólicas em organismos vivos (Esteves, 1998). Conforme Lima (2023), os metais não essenciais podem ser classificados como metais pesados, por exibirem alta densidade e massa atômica, e apresentam toxicidade mesmo em concentrações reduzidas.

Elementos como cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), fósforo (P), manganês (Mn), magnésio (Mg), potássio (K) e zinco (Zn) são essenciais para o metabolismo dos seres humanos, desde que estejam dentro dos limites da essencialidade. Já o cobalto (Co), juntamente com o cobre, ferro, manganês e zinco são importantes para os animais. Destaca-se que elementos como o cálcio, enxofre (S), fósforo, magnésio e potássio são macronutrientes essenciais para o desenvolvimento de plantas, que em conjunto com o boro (B), cobre, ferro, manganês, molibdênio (Mo) e zinco, que são micronutrientes e necessários para as plantas (Gomes, 2017; Colodetti *et al.*, 2021; Peres e Terra, 2021).

Alguns metais, por serem essenciais para o metabolismo dos seres vivos, são denominados de biogênicos. Entretanto, esses metais se tornam tóxicos e oferecem riscos à saúde pública e ao meio ambiente quando excedem os níveis mínimos de concentração ou apresentam capacidade bioacumulativa, mesmo que em baixas concentrações, sendo intitulados assim, “*metais pesados*” (Gomes, 2017).

Entre as propriedades químicas dos metais pesados, destaca-se a capacidade de bioacumulação e o elevado nível de reatividade, que devido à sua não metabolização, podem desencadear incontáveis reações químicas adversas nos seres vivos, apresentando, portanto, toxicidade (Souza, Morassuti e Deus, 2018; Cruz *et al.*, 2021).

De acordo com Förstner e Wittmann (1983), os metais podem ser categorizados em três classes: Classe I: Pouco Tóxico; Classe 2: Tóxico e Classe 3: Muito Tóxico, conforme apresentado no Quadro 2.

Os metais tóxicos mais comuns em lixiviados são alumínio, mercúrio, cádmio, manganês, cobre e zinco (Tsarpali *et al.*, 2012; Kumari *et al.*, 2016).

Quadro 2: Classificação dos elementos químicos em função da toxicidade

<b>POUCO TÓXICO</b>	<b>TÓXICO</b>	<b>MUITO TÓXICO</b>
Sódio	Titânio	Berílio
Potássio	Háfnio	Arsênio
Magnésio	Zircônio	Ouro
Cálcio	Bário	Níquel
Ferro	Ósmio	Zinco
Alumínio	Iridio	Cádmio
Rubídio	Nióbio	Prata
Estrôncio	Tântalo	Mercúrio
Cloro	Rênio	Chumbo

Fonte: Adaptado de Förstner e Wittmann (1983)

De acordo com Monteiro (2003), em aterros sanitários, os metais pesados podem apresentar toxicidade ao processo de biodegradação dos RSU. A presença de metais pesados em lixiviados ocorre porque os resíduos sólidos apresentam em sua composição materiais como pilhas, baterias, enlatados, tintas, plásticos, papéis e alimentos que na sua produção utilizam substâncias à base de metais (Melo, 2003). A fração orgânica dos RSU apresenta alguns metais pesados, sendo considerada uma das principais fontes desses elementos em lixiviados de aterros sanitários (Castilhos Júnior, 2003), conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4: Metais Pesados presentes na fração orgânica dos Resíduos Sólidos Urbanos

<b>SIGLA</b>	<b>ELEMENTO</b>	<b>PERCENTUAL</b>
Ag	Prata	17 a 70%
Cu	Cobre	70 a 80%
Ni	Níquel	54 a 56%
Zn	Zinco	26 a 42%
Cr	Cromo	21 a 26%
Cd	Cádmio	6 a 15%
Pb	Chumbo	19 a 48%

Fonte: Castilhos Júnior (2003)

Um dos parâmetros que influenciam na concentração de metais em lixiviados é o pH. De acordo com Monteiro (2003), os metais pesados tendem a precipitar na massa de resíduos aterrados quando o pH se encontra entre a neutralidade e basicidade, acarretando na redução das concentrações desses elementos no lixiviado. Esse fenômeno pode ser observado no trabalho de Gomes *et al.*, 2018, onde as concentrações de Chumbo, Cromo, Cobalto, Níquel, Ferro e Manganês diminuíram enquanto o pH aumentava.

Os metais pesados de lixiviados possui toxicidade por apresentar efeitos hepatóxicos, nefrotóxicos, neurotóxicos, teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos (Maia, 2015). Vale ressaltar, que em casos de contaminação aquática por lixiviados de aterro sanitário, o ecossistema ali presente poderá ser afetado e ocasionar um desequilíbrio ecológico, devido aos componentes tóxicos constituintes desse efluente. Além disso, a exposição crônica aos metais pode resultar em genotoxicidade, causando danos no DNA dos organismos expostos.

A toxicidade por metais está relacionada à dose e ao tempo de exposição ao contaminante, bem como à forma em que o elemento se apresenta (Tavares e Carvalho, 1992). Desse modo, os metais que possuem maior potencial tóxico são arsênio, cádmio, chumbo, cromo e mercúrio, que independentemente de sua origem e mesmo em concentrações baixas, podem permanecer no meio e entrar na cadeia trófica (Manahan, 1992; Mellis, 2006; Garcez, 2009).

### **3.5 Fitotoxicidade**

A fitotoxicidade refere-se à capacidade de uma substância causar danos às plantas. Essa toxicidade pode ocorrer devido à exposição das plantas a substâncias químicas potencialmente tóxicas, ocorrendo uma acumulação de toxinas no tecido das plantas (Chang, Grant e Page, 1992; Silva, 2016).

Estudos de fitotoxicidade são frequentemente utilizados para testar a toxicidade potencial de uma substância (Horie *et al.*, 2013; Song, 2019). Devido a simplicidade dos ensaios de fitotoxicidade e não necessitar de autorização em comitês de ética, essas análises são frequentemente utilizadas para avaliar a toxicidade, além de se apresentar como um método eficaz para analisar efeitos tóxicos de uma amostra (Song *et al.*, 2024).

O teste de fitotoxicidade é um método simples, rápido e econômico para determinar o potencial tóxico do lixiviado de aterros sanitários ao meio ambiente (Silva, 2022). Essas análises indicam, por meio da avaliação da germinação e do crescimento das raízes dos bioindicadores, o efeito que uma substância tem sobre as plantas (Silva, 2016; Ghosh *et al.*, 2017). Essa avaliação fornece uma melhor compreensão dos possíveis efeitos adversos do lixiviado de aterros sanitários ao organismo testado (Bellouk *et al.*, 2023).

A análise de fitotoxicidade é uma alternativa para a identificação da toxicidade do lixiviado de aterro sanitário ao meio ambiente (Silva *et al.*, 2023). A literatura apresenta inúmeros estudos que realizaram esse tipo de análise em lixiviados de aterro sanitário, e constataram que o efluente em questão é tóxico para diversas culturas, conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3: Estudo de fitotoxicidade com diversas culturas

ESPÉCIE		EFEITO	REFERÊNCIA
Nome científico	Nome popular	OBSERVADO	
<i>Allium cepa</i>	Cebola	CRR	Klauck <i>et al.</i> , (2015)
<i>Brassica oleraceae</i>	Repolho	CRR, GRS e IG	Silva <i>et al.</i> , (2023)
<i>Cannabis sativa L.</i>	Maconha	IG	Vaverková <i>et al.</i> , (2019)
<i>Lactuna lycopersicum</i>	Alface	DL <sub>50</sub>	Colombo <i>et al.</i> , (2019)
		CE <sub>50</sub>	Batista (2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate	GRS, CRR, IG e CE <sub>50</sub>	Nascimento (2021)

Legenda: CRR – Crescimento Relativo das Raízes; GRR – Germinação Relativa das Sementes; IG – Índice de Germinação; DL – Dose Letal; CE – Concentração Efetiva.

Fonte: Autora (2024)

Segundo Zucconi *et al.*, (1985), o lixiviado apresenta alta fitotoxicidade quando o  $IG < 50\%$ , fitotoxicidade moderada com  $IG$  entre  $50-80\%$ , sem fitotoxicidade quando o  $IG > 80\%$ , e apresenta efeito estimulante para as plantas quando o  $IG > 100\%$ .

Silva *et al.*, (2023), observaram que o lixiviado de aterro sanitário diluído em concentrações inferiores a 5% apresentaram efeito estimulante para sementes de *Brassica oleraceae*, e em diluições acima de 7% apresentaram fitotoxicidade para o mesmo bioindicador. Os mesmos autores também constataram que metais como Ferro, Manganês, Zinco e Chumbo apresentaram efeito positivo no  $IG$  em sementes de *Brassica oleraceae* expostas ao lixiviado diluído em concentrações elevadas, ou seja, acima de 7%.

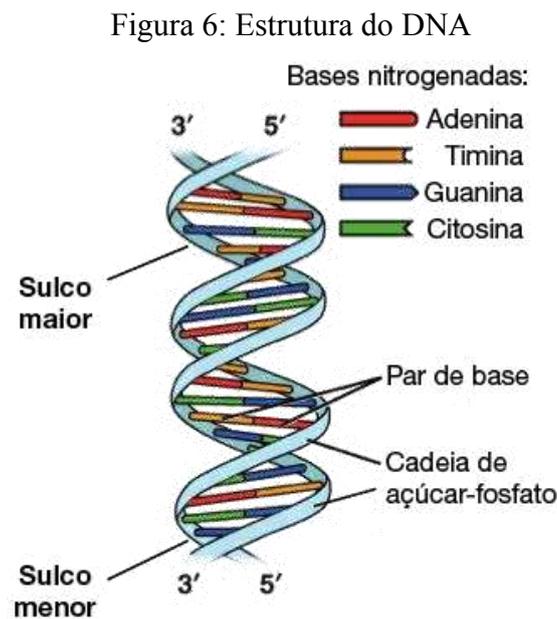
Bioensaios que aplicam o índice de germinação das plantas como um indicador de toxicidade consideram a sensibilidade dos bioindicadores à presença de contaminantes potencialmente tóxicos (Franco *et al.*, 2017; Silva, 2022). Desse modo, o  $IG$  e o crescimento das plantas constituem-se em parâmetros importantes para analisar a fitotoxicidade de uma substância.

### 3.6 Mitose

O ciclo celular é composto por fases que compõem os processos de divisão nuclear (mitose) e duplicação do DNA. A função primordial do ciclo celular consiste em assegurar a fiel duplicação do DNA e a distribuição equitativa de cópias idênticas dos cromossomos entre as células-filhas durante a mitose (Malumbres e Barbacid, 2009; Gonçalves, 2015).

O DNA é um ácido nucleico que contém todas as informações genéticas dos seres vivos, além de possuir papel fundamental na hereditariedade, sendo o portador do material genético (Urry *et al.*, 2022). Ainda de acordo com os autores, as principais funções do DNA são em armazenar e transmitir informações genéticas. Sua estrutura é composta por um conjunto de uma pentose (tipo desoxirribose), um ácido fosfórico e uma base nitrogenadas (adenina, citosina, guanina e timina). Esse conjunto forma o nucleotídeo (fita de DNA).

A Figura 6 apresenta as fitas de DNA.

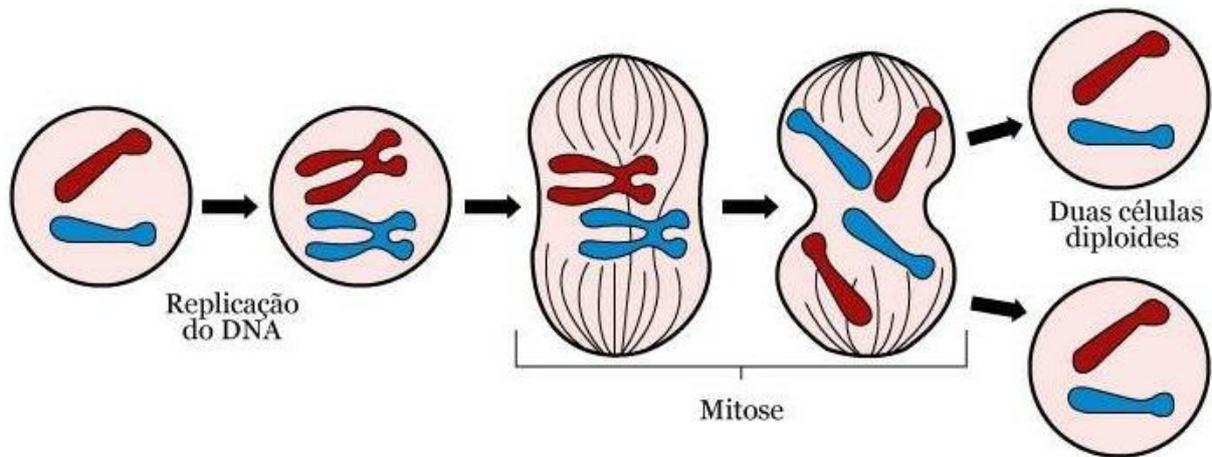


Fonte: Khan Academy (2024)

A mitose representa a fase em que o núcleo da célula se divide, e é composta por quatro fases (Junqueira e Carneiro, 2012; Alberts *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2020). Sendo regulada por diferentes classes de proteínas, a mitose se inicia quando as ciclinas (grupo de proteínas relacionadas) atingem determinadas concentrações, iniciando assim, a condensação dos cromossomos (Moreira, 2015).

A Figura 7 apresenta as fases do ciclo celular

Figura 7: Fases do ciclo celular



Fonte: Caiusca (2018)

A mitose é composta por quatro fases: a) Prófase, b) Metáfase, c) Anáfase e d) Telófase.

A Prófase é a fase mais longa, e nela é possível verificar a alterações no núcleo e no citoplasma celular. No começo dessa fase, cada cromossomo apresenta dois filamentos, denominados cromátides, unidos por um centrômero, e à medida que a prófase progride, os cromossomos aumentam sua espessura e se tornam curtos (Uzunian e Birner, 2008).

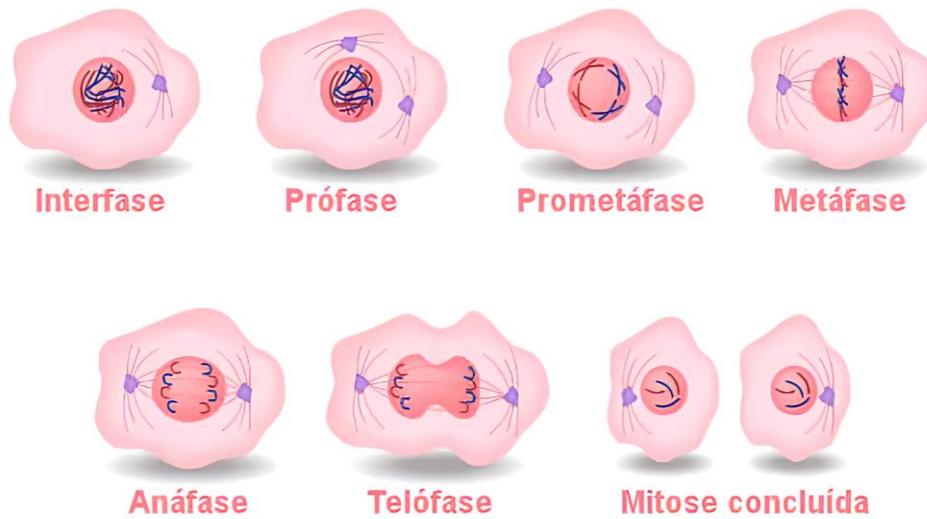
A Metáfase é a segunda fase da mitose, e nela os cromossomos permanecem parados por um longo período, além de atingirem sua máxima condensação (Moreira, 2015). Ainda de acordo com a autora, os dois cromátides de cada cromossomo alinham-se em posição opostas, permitindo a separação na Anáfase. Segundo Uzunian e Birner (2008), em paralelo à condensação dos cromossomos, é possível verificar uma intensa movimentação de partículas e organelas no citoplasma.

A Anáfase se inicia quando as cromátides-irmãs são separadas pelo momento em que o centrômero do cromossomo duplicado é dividido longitudinalmente, e essa fase termina quando os cromossomos-irmãos atingem os polos da célula (Uzunian e Birner, 2008). No final da anáfase, dois conjuntos idênticos de cromossomos se encontram em cada polo celular (Moreira, 2015).

Ainda de acordo com Moreira, (2015), a Telófase é a última fase e se inicia com a organização dos núcleos das células-filhas, formando o invólucro nuclear em torno dos cromossomos, a partir do retículo endoplasmático rugoso. O nucléolo é reconstituído e cada célula-filha entra na interfase. A divisão celular termina quando se origina duas células-filhas.

A Figura 8 apresenta as fases da mitose.

Figura 8: Fases da divisão celular

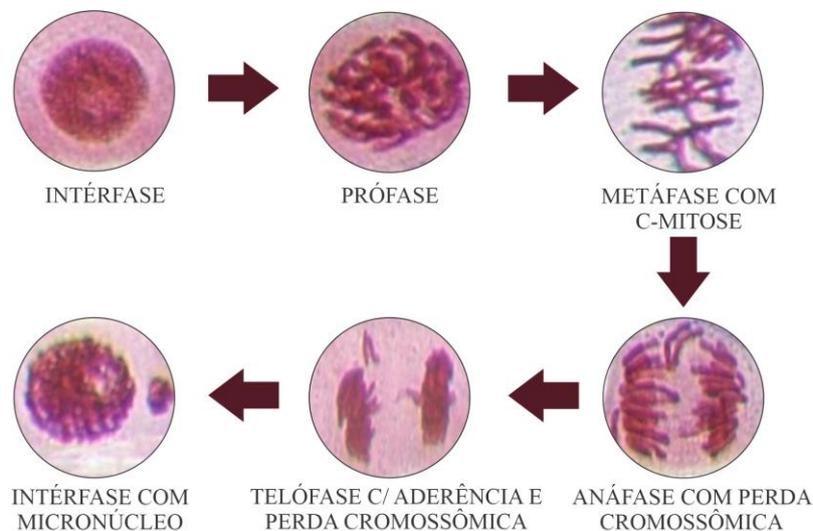


Fonte: Santos (2023)

### 3.7 Genotoxicidade

A genotoxicidade é o potencial que uma substância possui em induzir danos no material genético de uma célula, causando aberrações cromossômicas (AC) (Figura 9), tais como, anormalidade nucleares, anáfase e telófase com atrasos, pontes anafásicas, perdas cromossômicas, metáfase com aderência e C-Metáfases, que são indicativos de danos ocasionados por agentes genotóxicos (Palsikowski *et al.*, 2017; Dusinka *et al.*, 2019; Prolo Júnior, 2020).

Figura 9: Aberrações Cromossômicas no processo de mitose em células de *Allium cepa*



Fonte: Adaptado de Paixão (2020)

A genotoxicidade advém quando um agente genotóxico existente no solo, água ou ar ocasionam uma alteração na estrutura química do DNA, como trocas entre comátides-irmãs, aductos e lesões nas fitas de DNA e síntese de DNA não programada (Dearfield *et al.*, 2002; Kohatsu, Shimabukuro e Gattás, 2007; Curado *et al.*, 2018). As aberrações cromossômicas possuem capacidade para originar um processo de mutação, que pode provocar alterações na sequência da informação genética com potencial de desordenar o funcionamento de uma célula (kirsch-Volders *et al.*, 2011; Düsman *et al.*, 2012; Sposito *et al.*, 2019), seja animal, vegetal ou de qualquer organismo vivo, ocorrendo durante o processo de mitose.

Quando ocorre uma replicação defeituosa, dano no DNA ou a reunião dos cromossomos for aberrante, as células normais interrompem seu avanço no ciclo celular até que a condição seja corrigida. Entretanto, se o dano ao DNA ou cromossomo for extenso e não puder ser reparado, o ciclo celular é interrompido e o processo de morte celular por apoptose é desencadeado (Almeida *et al.*, 2005).

Os agentes genotóxicos são aqueles que interagem com o DNA produzindo modificações em sua estrutura ou função, e quando essas alterações se fixam apresentando a capacidade de serem transmitidas, são denominadas mutações (Gonçalves, 2015), que é onde ocorre a mutagenicidade.

Pilot e Dragan (1996) e Mídio e Martins (2000), afirmam que os agentes genotóxicos interagem com o material genético, provocando lesões. Essas lesões podem ser reparadas pelo próprio organismo ou a célula pode ser eliminada. Caso a lesão seja fixada, acarretando alterações hereditárias (mutações), que podem se perpetuar nas células filhas durante o processo de replicação, o agente é denominado mutagênico.

### **3.8 Mutagenicidade**

A mutagenicidade é definida pelo potencial que uma substância possui em provocar mutações genéticas que conseguem evoluir e causar câncer ou ser transmitidas durante a divisão celular para células filhas (Nascimento, 2018; FIOCRUZ, 2023).

O termo mutagenicidade está associado à genotoxicidade, uma vez que se caracteriza pela indução de mutações no material genético de forma permanente, ou seja, um agente genotóxico leva a mutagenicidade (Hara e Marin-Morales, 2017; Prolo Júnior, 2020).

O potencial mutagênico é estudado dentro da genética toxicológica, que não estuda somente um efeito específico adverso à saúde, mas avalia efeitos genotóxicos em potencial,

uma vez que, são considerados pré-requisitos importantes para o desenvolvimento de diversas patologias, como o câncer (Ribeiro, Salvadori e Marques, 2003).

A exposição ambiental a agentes genotóxicos e mutagênicos proporciona o aumento da carga mutagênica do organismo, assim, o risco precisa ser avaliado e minimizado (Ribeiro, Salvadori e Marques, 2003). O agente mutagênico é genotóxicos, porém, nem toda genotoxicidade resultará em mutações (Valente *et al.*, 2017). Isso acontece devido à atuação de um sistema que realiza reparos em regiões específicas, corrigindo o DNA (Kirsch-Volders *et al.*, 2011; Faria *et al.*, 2017; Curado *et al.*, 2018; Sposito *et al.*, 2019).

Biomarcadores são entidades que sinalizam a presença de funções normais ou anormais em um organismo, proporcionando a capacidade de avaliar os possíveis efeitos da exposição a agentes químicos (Peron, Canesin e Cardoso, 2009; Duarte *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2018). No caso da mutagenicidade, o micronúcleo é um dos métodos mais empregados (Sargsyana *et al.*, 2018). Os micronúcleos são núcleos idêntico ao da célula-mãe, porém de tamanho reduzido, e quanto maior for a quantidade de micronúcleos, maiores serão os danos ao DNA, resultando em potenciais efeitos adversos à saúde humana (Naves *et al.*, 2018).

A identificação em nível celular da existência de micronúcleos nas células de um organismo, é indicativo de mutagenicidade. A presença de micronúcleos é resultado de danos cromossômicos e alterações do processo mitótico (Fiskesjö, 1993; Barbério, 2011). Essa anomalia é definida pela existência de uma porção do material genético de uma célula que, devido a quebras ou falhas na separação durante a mitose, não se integra ao núcleo principal. Em vez disso, forma-se um ou mais núcleos menores adjacentes (Faria *et al.*, 2017; Martins *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2018; Curado *et al.*, 2018). Assim, a presença de micronúcleos indica que uma substância é mutagênica (Fiskesjö, 1993; Barbério, 2011).

### **3.9 Métodos para avaliar a toxicidade**

Os estudos de genotoxicidade e mutagenicidade podem se caracterizar como importantes ferramentas de diagnóstico dos possíveis impactos ambientais ocasionados pelo lixiviado de aterros sanitários. Thomas *et al.*, (2009), afirmam que os testes com microrganismos podem ter respostas adversas devido à presença de compostos recalcitrantes e metais pesados.

Quando os poluentes são lançados no meio ambiente, esses podem causar dois efeitos distintos nos organismos: efeito agudo e crônico (Silva *et al.*, 2012). O efeito agudo é mais fácil de ser detectado devido a sua duração curta e alta capacidade de recuperação, enquanto os

efeitos crônicos são mais complexos, devido ao longo prazo de detecção e suas respostas no ambiente serem mais lentas (Souza e Fontanetti, 2006).

O efeito crônico é resultado de uma longa exposição e de baixa intensidade, que interfere na sobrevivência dos organismos, sendo esses contaminantes transferidos por meio da cadeia trófica, podendo ser acumulados nos tecidos dos organismos por meio da bioacumulação (Ramos, 2001; Silva *et al.*, 2012).

Atualmente, um elevado número de testes biológicos está disponível para a avaliação genotoxicológica e mutagênicas desses agentes. Houk (1992) comentou a relevância desses testes nos estudos de monitoramento ambiental e para a saúde humana. Diversos bioensaios podem indicar mutações gênicas, mutações cromossômicas e recombinação mitótica e serem utilizados como ferramentas para o monitoramento ambiental, permitindo um diagnóstico mais amplo do poluente (Vargas *et al.*, 2001).

A análise da mutagenicidade permite uma avaliação do risco ao qual o ser humano se submete quando exposto às substâncias que apresentam o potencial de causar danos ao material genético das células (Maron e Ames, 1983; Mortelmans e Zeiger, 2000).

Alternativas como a inserção de bioensaios para avaliar efeitos tóxicos de substâncias químicas têm sido propostos (Kapanen e Itavaara, 2001; Rosa *et al.*, 2001; Wilke *et al.*, 2008). Os bioensaios como os testes de genotoxicidade e mutagenicidade, têm sido utilizados em diversos organismos-teste, como plantas, microrganismos, insetos e outros animais. Esses testes podem ser separados em dois grupos, com base na localização genética detectada e no sistema biológico empregado.

Os bioensaios em procariontes detectam agentes que induzem mutações gênicas e danos primários no DNA, incluída nessa categoria está a análise de mutagenicidade em *Salmonella* (Teste de Ames). Enquanto, os bioensaios em eucariontes detectam uma maior amplitude dos danos, incluindo mutações gênicas, danos e reparo do DNA, danos cromossômicos e aneuploidias, podendo ser citado o sistema-teste com *Allium cepa* (Souza, 2010).

Os eucariontes apresentam características que os tornam excelentes modelos genéticos para a avaliação de poluentes ambientais, sendo utilizados com muita frequência em estudos de monitoramento. Contudo, este destaque não se deve, apenas, à sensibilidade de detecção de mutágenos em diferentes ambientes, mas também pela possibilidade de avaliação de diversos *endpoints* genéticos, os quais abrangem desde as mutações pontuais até as aberrações cromossômicas em células de diferentes órgãos, como folhas, pólen e endospermas (Grant, 1994).

Segundo Silva, Heuser e Andrade (2003), diferentes organismos são utilizados como bioindicadores para avaliar possíveis efeitos tóxicos, sejam eles de origem antrópica ou

naturais. Em ambientes aquáticos são utilizados moluscos, esponjas, anfíbios, vermes bênticos e peixes como bioindicadores de toxicidade de poluentes. Para a avaliação da poluição aquática e atmosférica são utilizadas plantas como *Allium cepa* (cebola de cabeça) e *Vicia faba* (feijão-fava).

De acordo com Silva, Erdtmann e Henriques (2003) e Athanásio, Prá e Rieger (2014), os bioensaios citogenéticos possuem como objetivo avaliar os principais agentes capazes de afetar em nível molecular e fisiológico em um organismo exposto. Deste modo, se a substância provocar danos ao DNA, por consequência, há um potencial genotóxico e/ou mutagênico.

Leme e Marin-Morales (2009), afirmam que os ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade em vegetais são capazes de detectar substâncias deletérias presentes na amostra avaliada, mesmo que seja em baixas concentrações.

Uma opção para a detecção de substâncias genotóxicas e/ou mutagênicas é o uso de biomarcadores, que são organismos sensíveis a lesões no DNA, sendo considerados indicadores que evidenciam precisamente as possíveis alterações provocadas por agentes físicos, químicos ou biológicos em organismos vivos (Costa e Menk, 2000; Silva *et al.*, 2011).

Biomarcadores podem ser definidos como respostas biológicas aos poluentes ambientais que podem ser mensurados indicando a presença, os efeitos e, em alguns casos, o grau de contaminação. Uma questão que pode ser respondida por biomarcadores é se há contaminação ambiental em grau suficiente para causar efeitos fisiológicos. Se a resposta for positiva, justifica-se a aplicação de investigações adicionais para determinar a natureza e o grau de contaminação. Por esta razão, a indução significativa de um biomarcador pode ser considerada como um sinal de alerta à contaminação ambiental (Walker *et al.*, 2001).

Dentre os ensaios utilizando eucariontes nos estudos de Mutagênese Ambiental, destacam-se o teste de aberrações cromossômica e micronúcleo, por possuírem uma alta aceitação na avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade induzidas por poluentes ambientais (Leme, 2007).

O teste de aberrações cromossômicas é uma das mais empregadas para a avaliação de efeitos genotóxicos, apresentando informações valiosas quanto ao modo de ação dos poluentes testados (Rank *et al.*, 2002).

Leme (2007) afirma que os dois testes mencionados possuem uma alta aceitação na avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade induzidas por químicos ambientais e/ou poluentes, e que podem ser aplicados em uma ampla variedade de organismos-teste, o que permite uma avaliação mais precisa da contaminação ambiental.

A escolha do ensaio adequado para um determinado estudo depende das propriedades da amostra a ser testada, da validade do biomarcador, da utilidade do ensaio para amostras ambientais complexas, da sua base de dados acumulados, do seu baixo custo e sua simplicidade (Houk, 1992). Um dos testes mais utilizados nesse contexto é o sistema-teste *Allium cepa*. Tido como um excelente bioindicador de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade (Meneguetti *et al.*, 2012; Maceda *et al.*, 2015; Sposito *et al.*, 2019).

A espécie de *Allium cepa* vem se destacando devido à sua eficiência em avaliar danos genéticos induzidos por poluentes ambientais ou por substâncias químicas puras (Leme e Marin-Morales, 2009). Além das características que possui na sua cinética de proliferação. A *Allium cepa* demonstra um crescimento rápido das suas raízes, uma elevada taxa de divisão celular, destacando-se pela sua notável tolerância a diversas condições de cultivo, disponibilidade ao longo de todo o ano, facilidade de manuseio e pela presença de cromossomos em quantidade reduzida ( $2n=16$ ) e de considerável dimensão (Fiskejö, 1985).

Para analisar o potencial genotóxico e mutagênico de uma substância, existem diversos ensaios laboratoriais reconhecidos internacionalmente pelas agências reguladoras. Alguns ensaios de avaliação de genotoxicidade e mutagenicidade são capazes de detectar aberrações cromossômicas, troca de cromátides irmãs e micronúcleos. O bioensaio com *Allium cepa* utiliza o aparecimento de anomalias cromossômicas como um de seus biomarcadores para analisar os efeitos genotóxicos e mutagênicos de uma substância em suas raízes (Parvan *et al.*, 2020).

### **3.9.1 Sistema-teste *Allium cepa***

No decorrer do tempo, foram desenvolvidas diversas metodologias específicas para a detecção e avaliação de comprometimentos da molécula de DNA causados pela ação de xenobiontes. Esses testes servem de alerta sobre possíveis efeitos nocivos de agentes químicos, como também visam assegurar a qualidade do ecossistema como um todo (Fiskejö, 1985; Leme, 2007).

A primeira metodologia com *Allium cepa* como sistema-teste foi inserida por Levan (1938), com a apresentação de distúrbios no fuso mitótico devido à utilização de colchicina, que é uma substância que impede o ciclo mitótico. Esse mesmo autor em 1945 apresentou que soluções de sais orgânicos distintos impulsionavam vários tipos de aberrações cromossômicas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. Daí em diante, tem sido realizado adaptações na metodologia do sistema-teste *Allium cepa* com o intuito de promover uma avaliação mais abrangente dos poluentes, sendo eles misturas complexas, como é o caso de

grande parte das amostras ambientais ou substâncias puras (Fiskesjö, 1985; Rank *et al.*, 1993; Ma *et al.*, 1995; Leme e Marin-Morales, 2009).

Fiskesjö (1985), realizou as primeiras adaptações do sistema-teste *Allium cepa* com o objetivo de torná-lo um modelo-teste para estudos de monitoramento ambiental. Desta maneira, o autor propôs adaptações que permitiram a avaliação de compostos solúveis em meio aquoso até a avaliação de efeitos de soluções complexas. Após isso, Rank e Nielsen (1993), apresentaram novas adaptações no sistema-teste, tornando-o mais eficiente para a análise de misturas complexas. Entretanto, todas as adaptações apresentadas pelos autores foram relacionadas à avaliação de aberrações cromossômicas, que detecta agentes genotóxicos. Ma *et al.*, (1995) apresentaram adaptações do sistema-teste para o estudo de efeitos mutagênicos a partir da análise da indução de micronúcleos em células F<sub>1</sub> de radículas de *Allium cepa* expostas à poluentes ambientais. Destaca-se que as células F<sub>1</sub> correspondem a primeira geração filial.

O sistema-teste *Allium cepa* reúne diferentes alvos de ensaio, como a toxicidade, podendo ser medida pela germinação e inibição do crescimento das raízes; genotoxicidade e mutagenicidade, que podem ser analisadas pelas aberrações cromossômicas e teste de micronúcleos. Alterações a nível celular, como perturbações cromossômicas, efeitos sobre a divisão celular e micronúcleos são importantes para a compreensão da ação de substâncias químicas em sistemas biológicos (Grant, 1982; Fiskesjö, 1985, 1988; Rank e Nielsen, 1993; Ma *et al.*, 2005; Leme e Marin-Morales, 2009).

Em relação aos testes celulares microbiano e de mamíferos, o sistema-teste *Allium cepa* possui algumas vantagens, devido sua sensibilidade à metais pesados e demais poluentes ambientais, sendo muito útil para o monitoramento dos efeitos sinérgicos de substâncias com potencial poluidor, além de possibilitar a exposição diretamente em misturas complexas sem tratamento prévio da amostra do poluente para ensaio (Fiskesjö, 1985, 1988; Nielsen e Rank, 1994; Egito *et al.*, 2007; Barbério *et al.*, 2009). Diante disso, é possível realizar os ensaios com lixiviado bruto.

O sistema-teste *Allium cepa* é recomendado como padrão no monitoramento ambiental. No entanto, os resultados positivos devem ser considerados como uma advertência e uma indicação de que a substância testada pode vir a ser um risco para o meio ambiente e saúde humana (Fiskesjö, 1985).

### **3.9.2 Aberrações Cromossômicas**

O teste de aberrações cromossômicas em *Allium cepa* é utilizada para a detecção do potencial genotóxico, mas também pode ser aplicado na análise dos mecanismos de ação dos agentes testados (Rank e Nielsen, 1997). Esse teste é empregado como bioindicador de efeitos genotóxicos no monitoramento ambiental (Leme, 2007).

A análise de aberrações cromossômicas é um método direto para aferir danos em sistemas expostos às substâncias mutagênicas ou carcinogênicas (Rank *et al.*, 2002). O sistema-teste *Allium cepa* pode proporcionar a avaliação dos danos ou efeitos que agentes mutagênicos podem provocar, é indispensável que a amostra testada esteja em divisão mitótica contínua, visando identificar os efeitos tóxicos e as alterações formadas durante o ciclo celular (Silva *et al.*, 2003). Diante disso, de acordo com a frequência e o tipo de aberrações e anomalias mitóticas encontradas, é possível determinar se a amostra em estudo é mutagênica e/ou genotóxica.

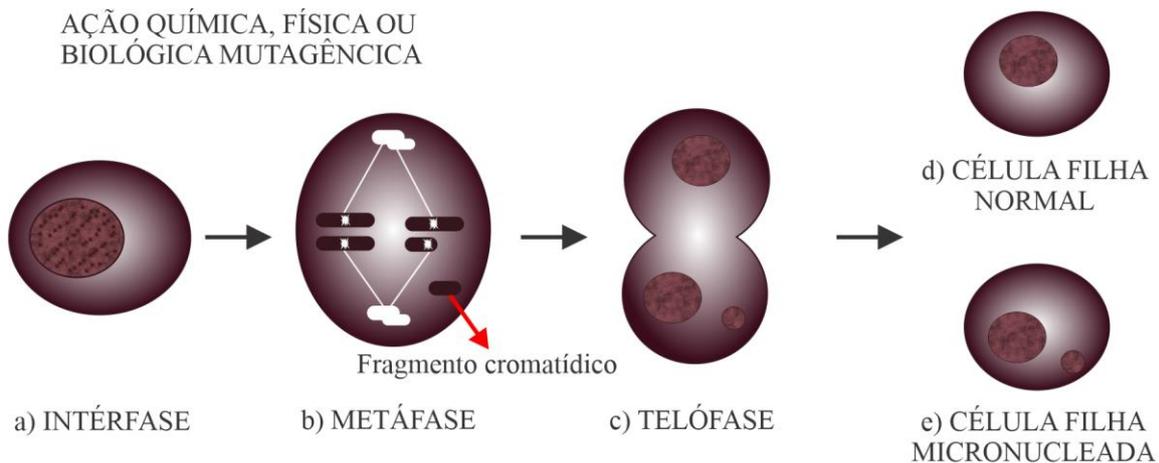
As aberrações cromossômicas são representadas pelas alterações na estrutura normal de um cromossomo ou no número total de cromossomos. As alterações cromossômicas podem ser induzidas por vários fatores, como quebras no DNA, replicação de DNA alterado e inibição da síntese de DNA, enquanto as aberrações cromossômicas numéricas são frutos das segregações anormais de cromossomos, podendo ocorrer naturalmente ou como consequência da exposição às substâncias genotóxicas (Albertini *et al.*, 2000; Leme e Marin-Morales, 2009).

O teste de aberrações cromossômicas é uma das mais empregadas para a avaliação de efeitos genotóxicos, apresentando informações valiosas quanto ao modo de ação dos poluentes testados (Rank *et al.*, 2002).

### **3.9.3 Teste de Micronúcleo**

Os micronúcleos são pequenos corpos contendo DNA que estão localizados no citoplasma (Figura 10), e são resultados dos danos causados por substâncias genotóxicas em células parentais, originando fragmentos cromossômicos oriundos de quebras que não são incorporados no núcleo principal das células filhas após a mitose (Schmid, 1975). Os micronúcleos surgem na telófase (última fase da mitose) e são provindos de fragmentos cromossômicos acêntricos, oriundos de quebras cromatídica, isocromatídicas, ou de disfunções do fuso mitótico, podendo apresentar-se mais de uma vez por célula (Ribeiro *et al.*, 2003).

Figura 10: Formação de uma célula micronucleada



Legenda: A Indução do dano estrutural cromossômico na interfase (a) por ação química, física ou biológica mutagênica, resulta na formação de um fragmento cromatídico sem centrômero (acêntrico), podendo ser visualizado quando os cromossomos são condensados na metáfase (b) da mitose. A reconstituição da membrana nuclear ao redor do fragmento cromatídico produz um micronúcleo (c), o qual pode ser quantificado na célula filha formado após a divisão (e).

Fonte: Adaptado Morandi (2011)

O aparecimento de micronúcleos indica a prévia existência de aberrações cromossômicas, surgindo primeiramente no final da primeira divisão mitótica, entretanto, podem surgir nas divisões seguintes micronúcleos adicionais (Maluf *et al.*, 2001).

Entre os *endpoints* avaliáveis, os micronúcleos são os mais simples e mais efetivos para apontar danos citológicos, o que torna a avaliação deste parâmetro muito eficaz na análise de poluentes ambientais (Heddle *et al.*, 1983; Ma *et al.*, 1995; Hayashi *et al.*, 1998; Matsumoto *et al.*, 2006; Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales, 2007; Leme, 2007). Isso ocorre devido os micronúcleos serem resultados de danos não reparados, ou erroneamente reparados nas células parentais, sendo facilmente observada nas células filhas, com estrutura semelhante ao núcleo principal, no entanto, de tamanho reduzido (Ribeiro, 2003; Leme, 2007).

Para avaliar os efeitos aneugênicos e clastogênicos em *Allium cepa*, o tamanho do micronúcleo pode ser utilizado como parâmetro. Micronúcleos de tamanho reduzido pode indicar efeitos clastogênicos, resultado da quebra cromossômica, enquanto micronúcleos de maiores tamanhos podem indicar efeitos aneugênicos, resultado da perda de cromossomos (Leme, Angelis e Marin-Morales, 2008).

O micronúcleo deve ser considerado morfológicamente semelhante ao núcleo principal, porém, de tamanho reduzido, com diâmetro entre 1/16 a 1/3 do núcleo principal. Deve ser considerada a não refringência, a não conexão ao núcleo principal e a presença de uma mesma intensidade de coloração do núcleo principal, embora possa ser encontrado, algumas vezes, com coloração um pouco mais intensa (Fenech, 2002).

Os testes com micronúcleos são eficazes na medição quantitativa de danos, podendo identificar a ocorrência da divisão celular quando expostos a uma substância, devido às células em divisão poderem expressar micronúcleos (Fenech e Morley, 1985; Fenech, 1993).

Por ser um método econômico e poder ser utilizado em grande escala, o teste de micronúcleo apresenta-se como uma técnica vantajosa, pois é uma análise simples e possui a possibilidade de aplicação em qualquer população celular em proliferação, descartando o conhecimento cariotípico prévio do organismo teste utilizado (Fenech, 1993; Hayashi *et al.*, 1998). O conhecimento cariotípico permite a representa os cromossomos de um organismo, permitindo a identificação de alterações numéricas ou estruturais (DB Molecular, 2023).

De acordo com Souza (2010), os testes de mutagenicidade em plantas são muito utilizados como indicadores de potencial genotóxico e mutagênico de vários agentes, rotineiramente em muitos laboratórios em vários países. Devido suas vantagens em testes de toxicidade, o sistema-teste *Allium cepa* é recomendado como biomonitor ambiental pelo IPCS (Programa Internacional de Segurança Química), patrocinado pelo PNUMA (Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente), pelo IPPB (Programa Internacional de Bioensaios com Plantas), OMS (Organização Mundial de Saúde) e OIT (Organização Internacional do Trabalho) (Rambo, 2013).

### **3.10 Análise Estatística**

Em problemas complexos de decisão, frequentemente os tomadores de decisão encontram dificuldade em fornecer avaliações subjetivas sobre a importância relativa dos critérios envolvidos (Boroushaki, 2017). Nesse sentido, pesquisadores têm utilizado a ponderação objetiva Entropia de Shannon.

No contexto da Teoria da Informação, a entropia de Shannon consiste uma métrica para avaliação da incerteza presente em uma determinada distribuição de probabilidade, sendo também referida como entropia da informação (Nascimento, 2013). Desenvolvida por Claude Shannon, a fórmula para a entropia de Shannon,  $H(X)$ , de uma variável aleatória discreta  $X$  com distribuição de probabilidade  $P(x)$ , é dada pela Equação 1.

### Equação 1: Entropia de Shannon

$$H(X) = - \sum_i P(x_i) * \log_2(P(x_i))$$

De acordo com Nascimento (2013), a entropia de Shannon é maior quando a distribuição de probabilidade é mais uniforme, indicando maior incerteza ou desordem. Por outro lado, a entropia é menor quando a distribuição de probabilidade é mais concentrada, indicando menor incerteza.

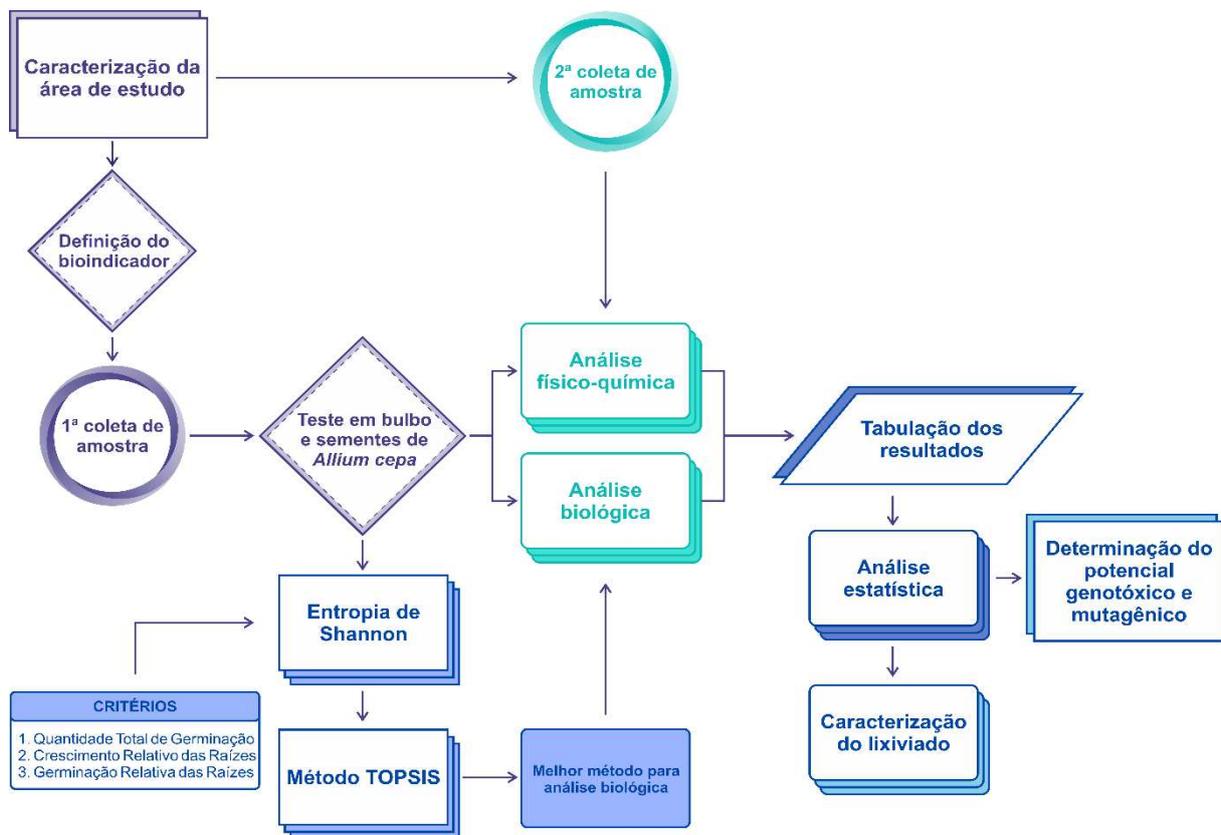
Shannon utiliza o termo “entropia” para descrever uma medida de relação relacionada à ideia de incerteza (Magossi e Paviotti, 2019), com capacidade de medir o grau de desordem do sistema (Boroushaki, 2017). Ou seja, quanto maior a entropia, maior a incerteza ou desordem, e vice-versa. Isso proporciona uma maneira de quantificar a informação em termos de surpresa ou imprevisibilidade.

A abordagem TOPSIS (*Technique for Order Performance by Similarity to Ideal Solution*) é uma metodologia de tomada de decisão que visa combinar critérios de avaliação padronizados, ponderados de acordo com seus pesos, para identificar a alternativa considerada ótima. Esta técnica pressupõe que os valores associados aos critérios variam de maneira crescente ou decrescente em relação ao objetivo analisado (Boroushaki, 2017). O método TOPSIS, desenvolvido por Hwang e Yoon (1981), é uma técnica de combinação de pontos ideais de operadores que postula que a melhor alternativa para um problema deve possuir a menor distância em relação à solução ideal (positiva) e a maior distância em relação à solução não ideal (negativa).

## 4 METODOLOGIA

Essa pesquisa possui cinco etapas metodológicas (Figura 11), que compreendem: 1) Caracterização da área de estudo, definição do bioindicador, 1ª coleta de amostra e realização de testes metodológicos com o bioindicador definido; 2) Análise multicritérios; 3) 2ª coleta de amostra, análises físico-químicas e biológicas; 4) Tabulação dos resultados e análise estatística e; 5) Caracterização do lixiviado e determinação do potencial genotóxico e mutagênico.

Figura 11: Fluxograma das etapas metodológicas



Fonte: Autora (2024)

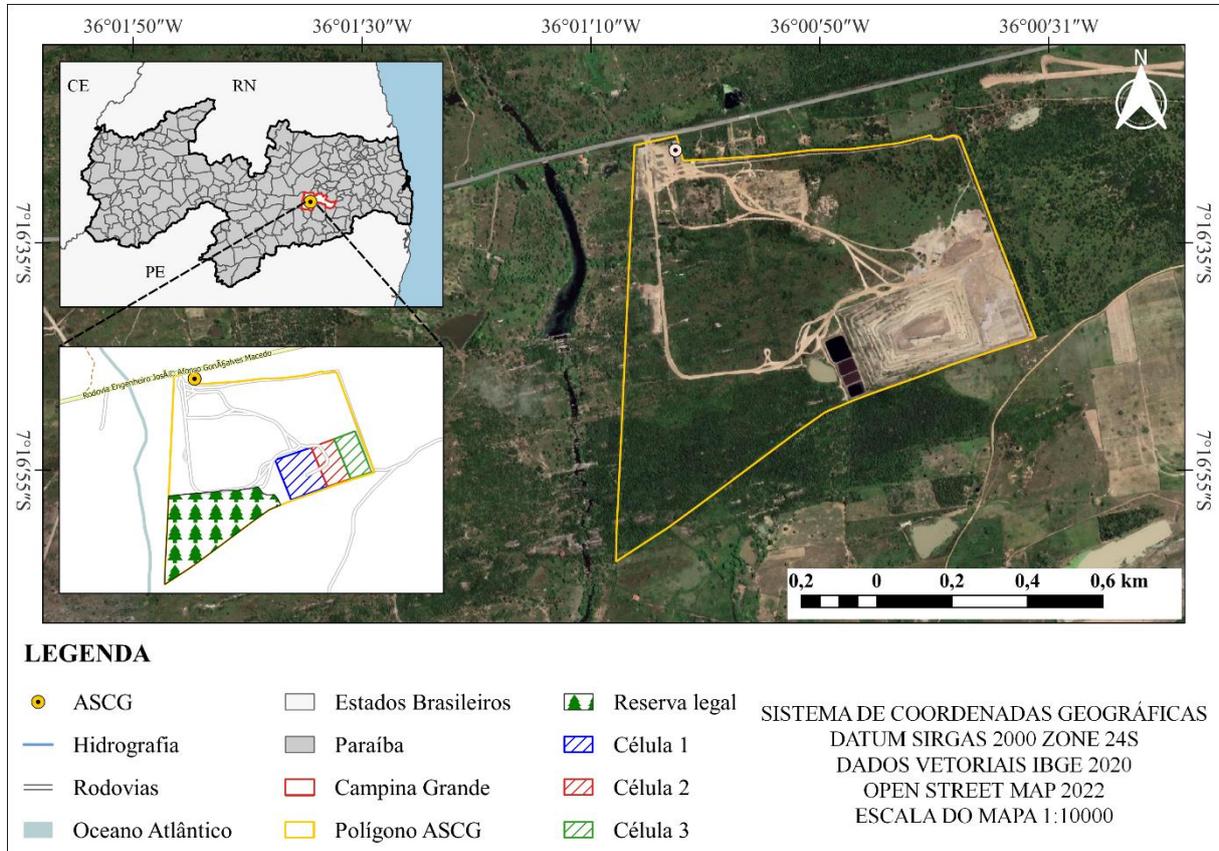
### 4.1 Etapa 1

#### 4.1.1 Caracterização da área de estudo

O Aterro Sanitário objeto de estudo está inserido no Bioma Caatinga e situado em clima semiárido brasileiro, no Estado da Paraíba (Figura 12), com temperaturas máximas de

20°C a 30°C no período seco e 13°C a 18°C no período chuvoso, com pluviosidade média anual de 503mm e evaporação média anual de 1.388,0 mm (IBGE, 2010).

Figura 12: Mapa de localização da área de estudo



Fonte: Autora (2024)

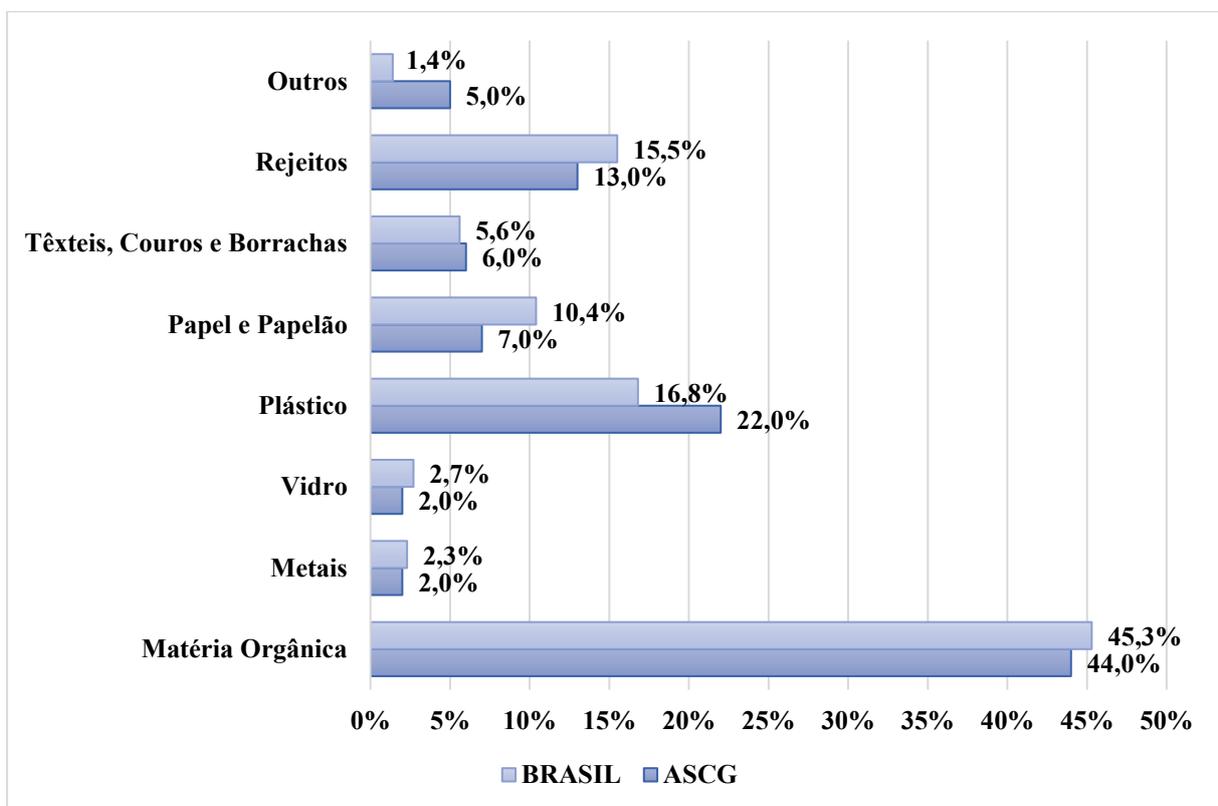
Com operação iniciada em junho de 2015, o Aterro Sanitário estudado nesta pesquisa é objeto de Monitoramento Geoambiental coordenado pelo Grupo de Geotecnia Ambiental (GGA), desde março de 2016, por intermédio de um Acordo de Parceria celebrado entre a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e a empresa ECOSOLO, responsável pela operação do aterro, tendo como interveniente a Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB). O acordo de parceria permite o monitoramento dos líquidos (água e lixiviado), sólidos (RSU e solo) e gases (drenos e fluxo pela camada de cobertura) do aterro, por meio de visitas técnicas semanais, coleta de material para análises e realização de ensaios *in situ* e em laboratório.

O empreendimento estudando dispõe de uma área de 77,19 hectares, com 16,11 hectares de Reserva Legal e 43,53 hectares destinados ao aterramento dos RSU, e foi projetado para uma capacidade de 350 tRSU.dia<sup>-1</sup>, resultando em uma vida útil de 25 anos, todavia,

atualmente, recebe em média 682 tRSU.dia<sup>-1</sup>, oriundos de 70 municípios e 17 empresas privadas, localizados entre os estados da Paraíba, de Pernambuco, e do Rio Grande do Norte.

De acordo com Bezerra (2023), a fração orgânica dos RSU dispostos no Aterro Sanitário em estudo apresenta 44%, estando abaixo da média para o Brasil apresentada no Plano Nacional de Resíduos Sólidos. Já os resíduos recicláveis secos e demais resíduos apresentam, respectivamente, 39% e 18%, estando acima da média apresentada no Plano Nacional de Resíduos Sólidos, que são de 37,8% para resíduos recicláveis e 16,9% para demais resíduos, conforme pode ser observado na Figura 13.

Figura 13: Comparativo da Composição Gravimétrica do Brasil e Aterro Sanitário em estudo

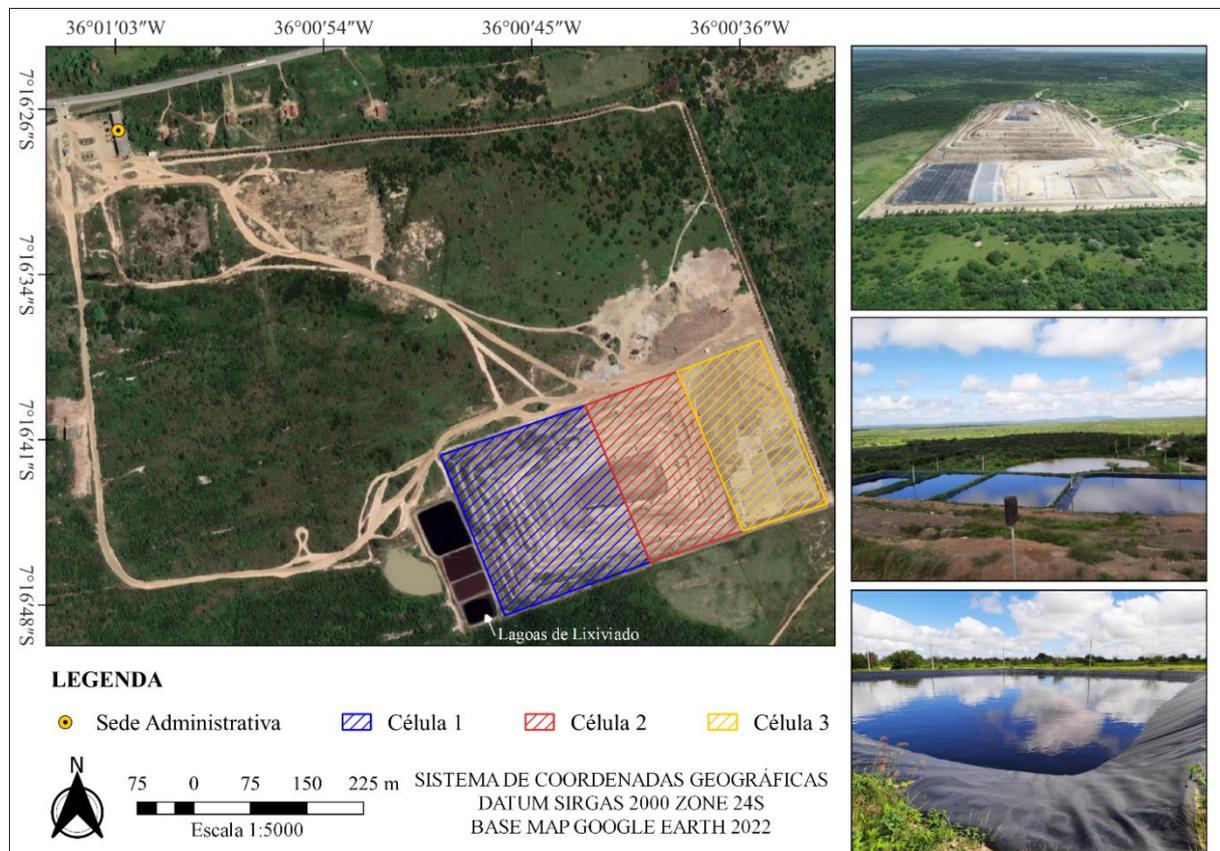


Fonte: Adaptado de Brasil (2022) e Adaptado de Bezerra (2023)

Atualmente, o Aterro Sanitário estudado dispõe da integração de duas Células Finalizadas (Célula 1 e 2) e uma Célula em Operação (Célula 3). A camada de base das Células finalizadas é impermeabilizada com solo argila bentonítica, assim como a camada de cobertura, que possui adição de solo de limpeza de fundo de barragens e açudes da região. Já a Célula em Operação, além do solo bentonítico, possui manta de geossintético de Polietileno de Alta Densidade (PEAD) para a impermeabilização do solo.

O Empreendimento em estudo possui um sistema de drenagem em forma de “espinha de peixe” nas Células 1 e 2 e “drenagem em grade” na Célula 3, que foi instalada sob a camada de base do Aterro com o objetivo de conduzir o lixiviado captado para quatro Lagoas de Acumulação do Lixiviado (LAL), construídas e dimensionadas na face sudoeste do Aterro (Figura 14). Nessas lagoas, que são utilizadas como forma de controle de vazão, o lixiviado é armazenado e acumulado para posteriormente, ser recirculado às Células, de tal maneira que, parte da água constituinte do lixiviado é evaporada, em ocorrência à incidência de evaporação ser maior do que a de precipitação na região. A recirculação é realizada por um caminhão tanque que faz a aspersão do lixiviado sobre as camadas de resíduos sólidos.

Figura 14: Mapa de localização das Células e Lagoas de Acumulação do Lixiviado



Fonte: Autora (2024)

As Células possuem também, piezômetros do tipo Casagrande, que são instrumentos distribuídos no maciço sanitário, para medição dos níveis de líquidos, conforme critérios estabelecidos pela operação do Aterro, bem como poços de monitoramento de água subterrânea à montante e jusante do Empreendimento.

O Aterro Sanitário em estudo conta ainda com um sistema de drenagem do biogás com Drenos Verticais (DV) distribuídos em todas as Células. Os DVs são constituídos por manilhas de concreto composta por orifícios, para viabilizar o fluxo de biogás em toda a extensão.

#### 4.1.2 Definição do bioindicador

Essa etapa metodológica foi realizada por meio de uma revisão bibliográfica sistemática avaliando os bioindicadores disponíveis na literatura científica e análise de multicritérios, tais como: simplicidade do ensaio, materiais e reagentes necessários e dispensa de autorização no comitê de ética, associado com a viabilidade técnica e econômica para a realização da pesquisa.

#### 4.1.3 Teste metodológico

Essa etapa metodológica consistiu na aplicação de duas metodologias com o mesmo bioindicador (*Allium cepa*) disponíveis na literatura científica. O teste constituiu na análise de fitotoxicidade em sementes e bulbos de *Allium cepa*.

Devido as análises de genotoxicidade e mutagenicidade em *Allium cepa* avaliar as alterações morfológicas no interior das células presentes nas raízes, foi analisado a fitotoxicidade do organismo-teste ao lixiviado em diferentes concentrações, bem como em amostra Controle Negativo (CN), em água destilada e Controle Positivo (CP), utilizando o fármaco Paracetamol 750mg (Sturbelle *et al.*, 2010).

As concentrações testadas do lixiviado foram realizadas de acordo com as diluições já utilizadas no Grupo de Geotecnia Ambiental, como também, seguindo o protocolo da Associação Brasileira de Genotoxicidade e Genômica Ambiental, que determina o emprego de cinco concentrações diferentes da amostra a ser analisada, além do CN e CP (Quadro 4).

Quadro 4: Diluição das amostras

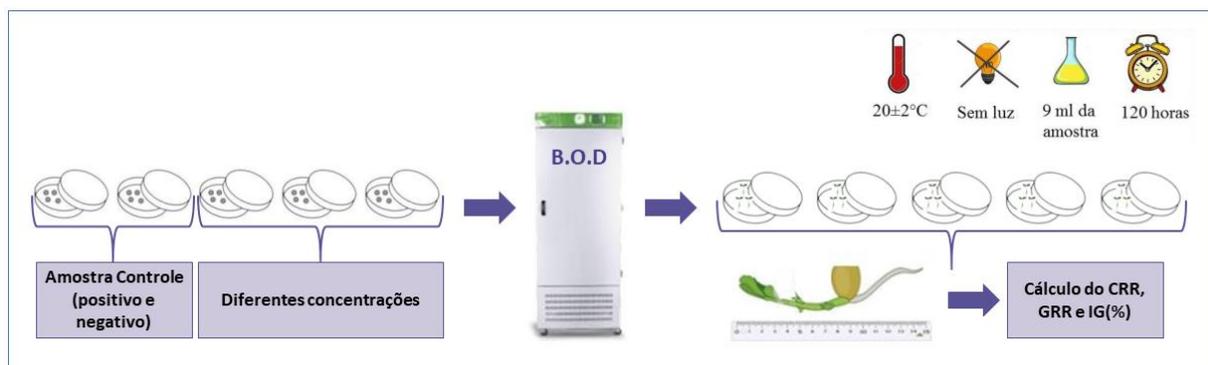
CONTROLE		LIXIVIADO				
CN	CP	T1	T2	T3	T4	T5
Água destilada	Paracetamol 750 mg/L <sup>-1</sup>	1,00%	2,25%	5,06%	11,38%	Bruto

Fonte: Adaptado de Sturbelle *et al.*, (2010), Gomes (2017) e Silva (2022)

Os testes metodológicos constituíram em análises de fitotoxicidade (Tiquia, Tan e Hodgkiss, 1996; adaptado de Melo, 2003; Silva, 2022) em sementes e bulbos de *Allium cepa*, com adaptações dos métodos propostos por Meneguetti *et al.*, (2012), Carvalho *et al.*, (2017) e Oliveira *et al.*, (2022).

Os testes em sementes de *Allium cepa* (adaptado de Carvalho *et al.*, 2017 e Silva, 2022), compreende na disposição de 10 sementes em triplicata, totalizando 30 sementes, do organismo-teste em Placas de Petri forradas com papel filtro e colocadas para germinar em 9 ml das amostras controle (positivo e negativo) e ao lixiviado em diferentes concentrações e incubadas em uma incubadora do tipo B.O.D em  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 5 dias (Figura 15). No 5º dia foi observado a quantidade de sementes germinadas e realizado a medição do comprimento das raízes e, a partir dessa observação, foram determinados os índices de Germinação Relativa das Raízes (GRR), Crescimento Relativo das Raízes (CRR) e Índice de Germinação (IG), conforme as Equações 2, 3 e 4, respectivamente.

Figura 15: Esquema ilustrativo da análise de fitotoxicidade em sementes de *Allium cepa*



Fonte: Adaptado Silva (2022)

Equação 2: Germinação Relativa das Raízes

$$GRR (\%) = \frac{n^{\circ} \text{ de sementes germinadas}}{n^{\circ} \text{ de sementes germinadas no controle}} * 100$$

Equação 3: Crescimento Relativo das Raízes

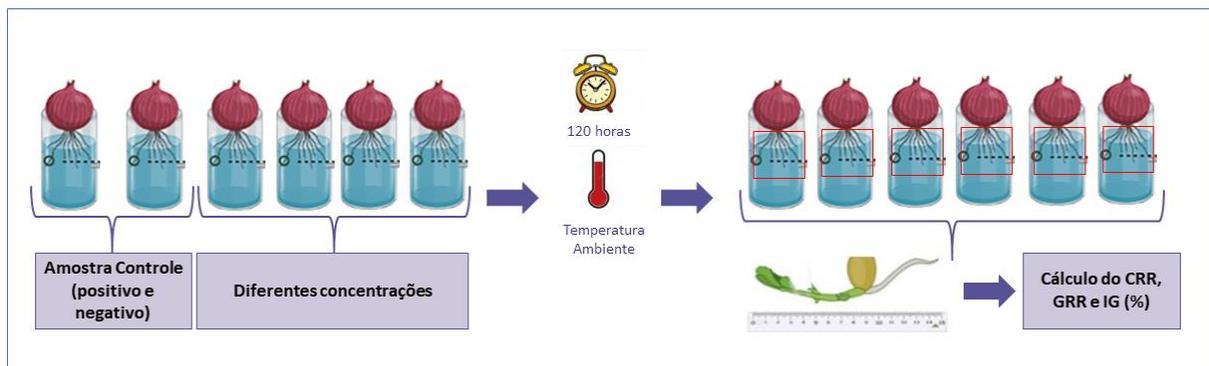
$$CRR(\%) = \frac{\text{média do comp. da raiz}}{\text{média do comp. da raiz no controle}} * 100$$

Equação 4: Índice de Germinação

$$IG(\%) = \frac{GRR}{CRR} * 100$$

Os testes realizados em bulbo de *Allium cepa* (adaptado de Meneguetti *et al.*, 2012 e Oliveira *et al.*, 2022), correspondem na disposição em triplicata de 01 bulbo de *Allium cepa* em recipiente coletor para análises clínicas. Esses bulbos foram expostos à 60 ml das amostras controle e ao lixiviado em diferentes concentrações e incubadas em temperatura ambiente (25°C) por 5 dias (Figura 16). No 5º dia foi realizado os mesmos procedimentos descritos para os testes em sementes de *Allium cepa*.

Figura 16: Esquema ilustrativo da análise de fitotoxicidade em bulbos de *Allium cepa*



Fonte: Autora (2024)

Ambos os testes metodológicos foram realizados no dia de coleta do lixiviado com as mesmas amostras e concentrações.

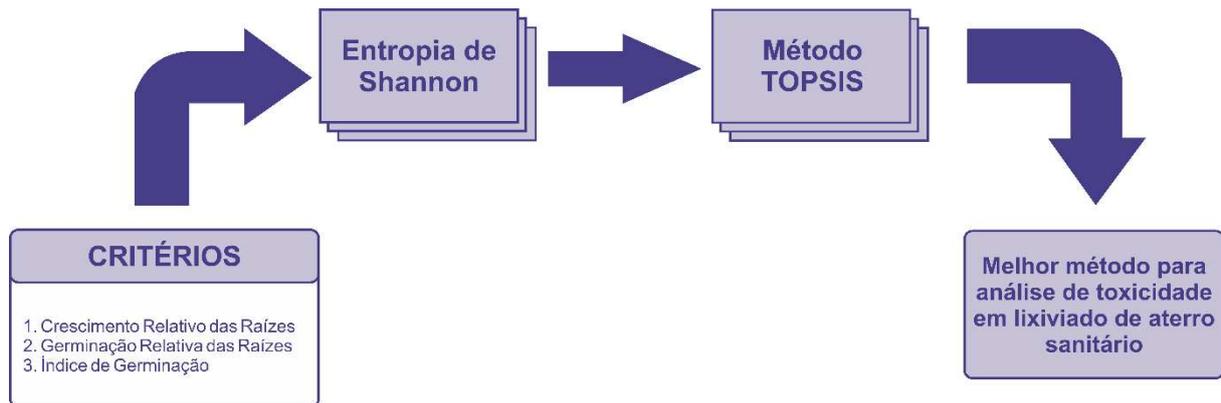
## 4.2 Etapa 2

### 4.2.1 Análise multicritério

A análise multicritério dos resultados obtidos dos testes metodológicos com sementes e bulbos de *Allium cepa* consistiu no emprego da Entropia de Shannon e Método TOPSIS descrito por Boroushaki (2017), onde os critérios de entrada foram: a) Quantidade Total de Germinação; b) Crescimento Relativo das Raízes e; c) Germinação Relativa das Raízes. Essa análise foi utilizada para a determinação do melhor método de avaliação de toxicidade do lixiviado de aterro sanitário em *Allium cepa*.

A Figura 17 apresenta o fluxograma da análise multicritério.

Figura 17: Fluxograma da análise multicritério



Fonte: Autora (2024)

### 4.3 Etapa 3

#### 4.3.1 Procedimento experimental

##### 4.3.1.1 Coleta da amostra

As amostras de lixiviado utilizadas nesta pesquisa são oriundas do Aterro Sanitário em estudo.

As amostras foram coletadas de acordo com a NBR 9898:1987 e armazenadas em temperatura de 4°C e encaminhadas para o Laboratório de Geotecnia Ambiental e Biotecnologia (LGAB), pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia Civil da Universidade Federal de Campina Grande, onde foram realizadas as análises de acordo com os métodos do APHA, AWWA e WEF (2023), já os parâmetros analisados estão descritos na Tabela 5.

A coleta do lixiviado *in natura* para a primeira etapa metodológica ocorreram nos meses de abril e junho de 2023, bem como os testes de diluições, que foram definidas a partir do crescimento das raízes de *Allium cepa* quando expostas ao lixiviado em diferentes concentrações. Enquanto, a coleta do lixiviado para a terceira etapa metodológica ocorreu no período de julho à dezembro de 2023, contudo, os dados abordados nesta pesquisa para os bioensaios toxicológicos são referentes ao mês de dezembro de 2023, devido as análises realizadas nos meses remanescentes terem apresentado erros.

#### 4.3.1.2 Análise Físico-Química e Metais Pesados

Com o intuito de caracterizar o lixiviado quanto aos indicadores físico-químicos foram realizados os ensaios descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Ensaio físico-químicos realizados

	<b>Parâmetro</b>	<b>Sigla</b>	<b>Unidade</b>	<b>Método</b>
<b>Orgânico</b>	Demanda Bioquímica de Oxigênio	DBO <sub>5</sub>	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	5010 B; 5210 B
	Demanda Química de Oxigênio	DQO	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	5010 B; 5220 C
	DQO/DBO <sub>5</sub>	*	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	*
<b>Inorgânico</b>	Potencial Hidrogeniônico	pH	*	4500 B
	Temperatura	T	°C	2550 B
	Alcalinidade Total	AT	mg.L <sup>-1</sup>	2320 B
	Ácidos Graxos Voláteis	AGV	mg.L <sup>-1</sup>	5560 C
	Nitrogênio Amoniacal Total	NAT	mg.L <sup>-1</sup>	4500 B
	Nitrito	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	4500 B
	Nitrato	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	4500 B
	Cloreto	Cl <sup>-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	4500 B
	Sulfato	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	4500 E

\*AD - Adimensional

Fonte: APHA, AWWA e WEF (2023)

Os ensaios físico-químicos foram realizados nos Laboratórios de Geotecnia Ambiental (LGAB) administrado pelo Grupo de Geotecnia Ambiental (GGA), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Campina Grande.

O ensaio de metais foi realizado pelo Laboratório MR Ambiental LTDA. EPP – empresa privada – sendo apresentados na Tabela 6 os principais metais essenciais e metais pesados.

Tabela 6: Ensaios de metais pesados realizados

	Sigla/Parâmetro	Unidade	Método de Referência		
			Preparação	Determinação	
<b>ESSENCIAIS</b>	Ca	Cálcio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Cu	Cobre	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Fe	Ferro	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Ni	Níquel	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	P	Fósforo	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	K	Potássio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Zn	Zinco	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Mg	Magnésio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Mn	Manganês	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
<b>PESADOS</b>	Al	Alumínio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	As	Arsênio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Cd	Cádmio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Pb	Chumbo	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Cr	Cromo	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Co	Cobalto	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B
	Hg	Mercúrio	mg.L <sup>-1</sup>		PO 098
	U	Urânio	mg.L <sup>-1</sup>	3030 E	3120 B

Fonte: APHA, AWWA e WEF (2023)

Os parâmetros descritos na Tabela 6 foram analisados pelo método Carreira de Metais – CRL 0692, no qual são avaliados 55 parâmetros no total, todavia, somente 20 (distribuídos nas Tabelas 5 e 6) serão discutidos neste trabalho. Os resultados dos demais parâmetros analisados se encontram no Anexo A.

#### 4.3.1.3 *Bioensaio toxicológico*

As análises biológicas consistiram em ensaios utilizando o bulbo do organismo-teste *Allium cepa*, para determinar a fitotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do lixiviado por meio do índice de germinação (IG), índice de alterações cromossômicas (CAI) e índice de mutagenicidade (MutI), respectivamente.

Foram realizadas adaptações das metodologias propostas por Meneguetti *et al.*, (2012) e Oliveira *et al.*, (2022).

Essa análise foi dividida em três etapas, sendo elas: i) germinação dos bulbos; ii) preparo das lâminas e; iii) análise microscópica.

A Figura 18 apresenta o fluxograma das etapas metodológicas para os bioensaios.

Figura 18: Fluxograma das etapas metodológicas dos bioensaios



Fonte: Autora (2024)

- **Etapa 1:** Disposição em triplicata de 01 bulbo de *Allium cepa* em 60ml das amostras controle e ao lixiviado em diferentes concentrações e incubadas em temperatura ambiente por 5 dias (Figura 19) e no 5º dia coletou-se as raízes germinadas com comprimento acima de 0,5 cm e realizou-se a medição das raízes em régua graduada para determinar a fitotoxicidade do lixiviado ao organismo-teste, conforme descrito no subitem 4.1.3.

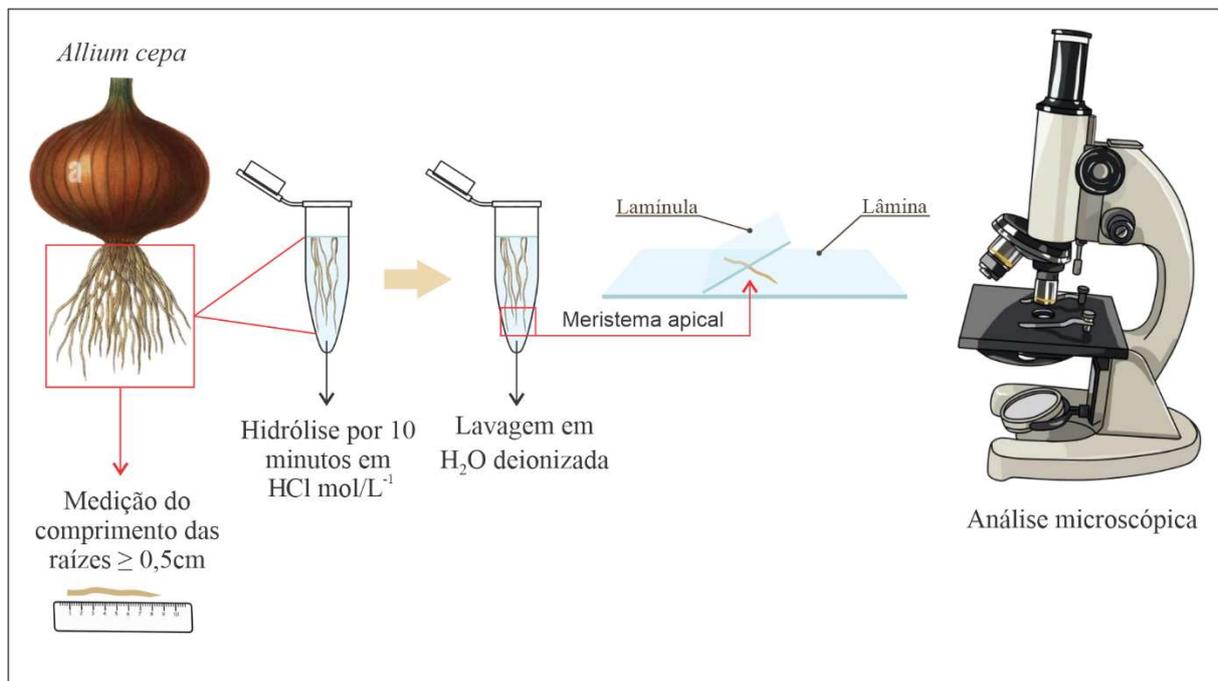
Figura 19: Germinação dos bulbos



Fonte: Autora (2024)

- **Etapa 2:** Após a coleta e medição das raízes, estas foram lavadas com água destilada e reservadas em tubos eppendorf seguido de hidrólise com HCl 1 mol/L<sup>-1</sup> por 10 minutos. Em seguida, selecionou-se a maior raiz e lavou-se novamente com água deionizada e colocou-se na lâmina e seccionou-se o meristema apical e realizou-se o esmagamento da raiz em partículas menores com o auxílio de um bastão de vidro. Logo após, foi adicionado 1 gota deorceína acética 2% e deixar agir por 2 minutos, a fim de colorir os núcleos celulares. Posteriormente, as lâminas foram coradas com o kit Panótico Rápido LB adicionando 1 gota das três substâncias compostas pelo kit: triarilmetano 0,1%, xantenos 0,1% e tiazinhas 0,1%. Após a coloração, cobriu-se a raiz com a lamínula e limpou-se o excesso de corante com papel filtro.

Figura 20: Esquema ilustrativo da análise biológica



Fonte: Autora (2024)

- **Etapa 3:** Após a preparação da lâmina, realizou-se a contagem de 500 células de *Allium cepa* por lâmina, totalizando 1.500 células por amostra. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico trinocular, com objetivas de 10x e 40x e ocular de 10x, obtendo um aumento de 100x e 400x, respectivamente. Para a contagem de núcleos celulares foi utilizado o software ImageJ versão 1.51.

## **4.4 Etapa 4**

### ***4.4.1 Análise Estatística***

A análise estatística foi realizada por meio do software Jamovi 2.4.11, e programa Excel, onde consistiu no emprego da Estatística Descritiva, para garantir a integridade e interpretação dos resultados, com a retirada dos outliers e geração da média aritmética e desvio padrão; Teste de Normalidade para determinar se o conjunto de dados é bem modelado por uma distribuição normal; Correlação de Pearson; Análise Multivariada de Covariância (MANCOVA) com significância estatística de  $p < 0,05$ , utilizando a estatística multivariada de Pillai's Trace. A MANCOVA especifica se ocorreu diferença estatística significativa entre os pontos, porém não especifica entre quais pontos ocorreu essa diferença, em razão disso, utilizou-se também o Teste T de Student para amostras independentes.

## **4.5 Etapa 5**

### ***4.5.1 Caracterização do lixiviado***

A caracterização do lixiviado baseou-se nos resultados das análises físico-químicas. Como referência dos resultados, utilizou-se a obra de Pohland e Harper (1986), referente ao lixiviado gerado nas diferentes fases da biodegradação dos RSU. Podendo assim, estimar a idade do lixiviado analisado nesta pesquisa. E comparar com os resultados apresentados por Filho *et al* (2017), Silva *et al.*, (2019) e Gomes (2020), que caracterizam o lixiviado de diferentes aterros sanitários no semiárido brasileiro.

### ***4.5.2 Determinação da fitotoxicidade e potencial genotóxico e mutagênico***

A determinação da fitotoxicidade baseou-se a partir da definição do Índice de Germinação (Equação 3). Já o potencial genotóxico e mutagênico na identificação da presença de Aberrações Cromossômicas (AC) e Micronúcleos (MN) e calculado partir do Índice de Palsikowski *et al.*, (2017). Esse índice determina a frequência de alterações cromossômicas e micronúcleos, conforme apresentados nas Equações 5 e 6.

A genotoxicidade avaliou-se por meio do Índice de Alterações Cromossômicas (Equação 5), no qual foi considerado as células que continham aberrações cromossômicas em

células de *Allium cepa*, tais como: C-metáfase, aderência, perda, poliploidia, pontes e multipolaridade; e anormalidades nucleares (células binucleadas, trinucleadas e núcleos lobulados). Enquanto que a mutagenicidade foi avaliada por meio do Índice de Mutagenicidade (Equação 6), em que foi analisado a presença de micronúcleos.

Equação 5: Índice de Alterações Cromossômicas

$$CAI = \frac{N^{\circ} \text{ total de células alteradas}}{N^{\circ} \text{ total de células observadas}} * 100$$

Equação 6: Índice de Mutagenicidade

$$MutI = \frac{N^{\circ} \text{ total de micronúcleos}}{N^{\circ} \text{ total de células observadas}} * 100$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

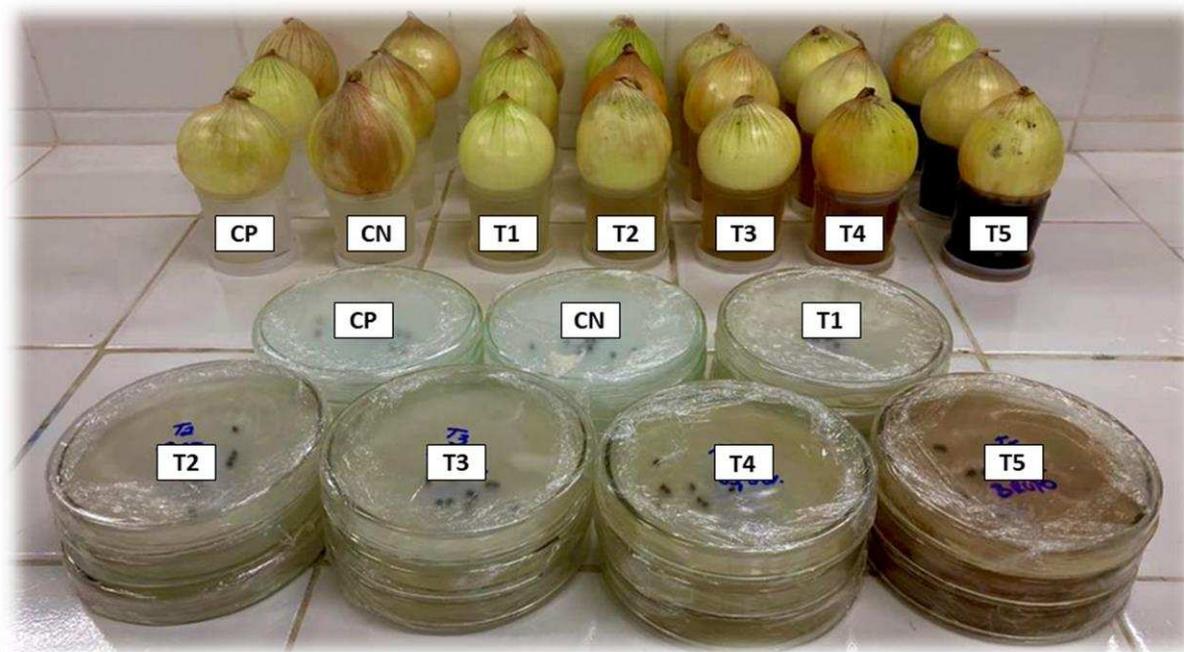
### 5.1 Definição do Bioindicador e Testes Metodológicos

Com base na literatura foi definido como bioindicador a espécie vegetal *Allium cepa*, pois as análises de genotoxicidade e mutagenicidade com esse organismo-teste apresenta um alto índice de aceitação na comunidade científica, bem como, dispensa a autorização em comitê de ética, além de possuir simplicidade e baixo custo para a realização do ensaio, como também possui cromossomos reduzidos ( $2n=16$ ) (FIskejö, 1985).

Conforme apresentado no item 4.1.3, foi realizado testes metodológicos com sementes e bulbos de *Allium cepa* e avaliado a fitotoxicidade do lixiviado em diferentes concentrações ao organismo-teste e foi escolhido o método que apresentou melhor Índice de Germinação (IG).

Os testes metodológicos foram realizados em triplicatas tanto nas amostras controle (positivo e negativo), quanto no lixiviado bruto e diluído em mais quatro concentrações (Figura 21), conforme foi apresentado no Quadro 4.

Figura 21: Testes metodológicos em sementes e bulbos de *Allium cepa*



Fonte: Autora (2024)

Em paralelo aos ensaios de fitotoxicidade, também foi realizado a caracterização físico-química do lixiviado. Os indicadores físico-químicos são utilizados como meio para

avaliar os compostos constituintes do lixiviado, bem como associá-los ao grau de toxicidade desse efluente. A Tabela 7 apresenta a caracterização físico-química do lixiviado empregado nos testes metodológicos.

Tabela 7: Resultados das análises físico-químicas dos testes metodológicos

PARÂMETRO	UNIDADE	RESULTADO
pH	AD	8,30 ± 0,12
Alcalinidade Total	mg/L <sup>-1</sup>	8.250 ± 3.535,53
NAT	mg/L <sup>-1</sup>	1.851,5 ± 143,54

Fonte: Autora (2024)

De acordo com Renou *et al.*, (2008) e Admed e Lan (2012), quando o valor de pH é maior que 7,5 indica que o lixiviado é resultado de um aterro sanitário velho, com idade superior a 10 anos, o qual coincide com a idade de operação do aterro sanitário objeto de estudo, que apresentou pH 8,30. Ferreira (2010), afirma que essa faixa de pH em lixiviados é um indicativo de que os resíduos aterrados se encontram em fase avançada da estabilização biológica. Silva *et al.*, (2022), no período de fevereiro a outubro de 2022 analisaram o pH do lixiviado do mesmo aterro sanitário objeto de estudo dessa pesquisa, e obtiveram valores médios de 8,15, bem próximo aos valores de pH presentes nessa etapa da pesquisa, que foi realizada no período de abril a junho de 2023.

O pH é um componente que está associado à toxicidade do lixiviado. Quando se encontra em estado alcalino, ocorre a liberação de NH<sub>3</sub>, aumentando o potencial tóxico por amônia. Em contrapartida, nessas condições, acontece a solubilização dos metais pesados, diminuindo a toxicidade no lixiviado por esses elementos.

Em lixiviado, o N-NH<sub>3</sub> destaca-se como um poluente de relevância significativa devido às diversas possibilidades de estados de oxidação que essa substância pode assumir. Quando a amônia está presente em excesso no solo ou água pode desencadear diversos impactos negativos, como mortandade de flora e fauna, eutrofização em corpos hídricos, inibição do metabolismo de microrganismos, fitotoxicidade no solo e formação de substâncias com potencial carcinogênico e mutagênico em diversos organismos.

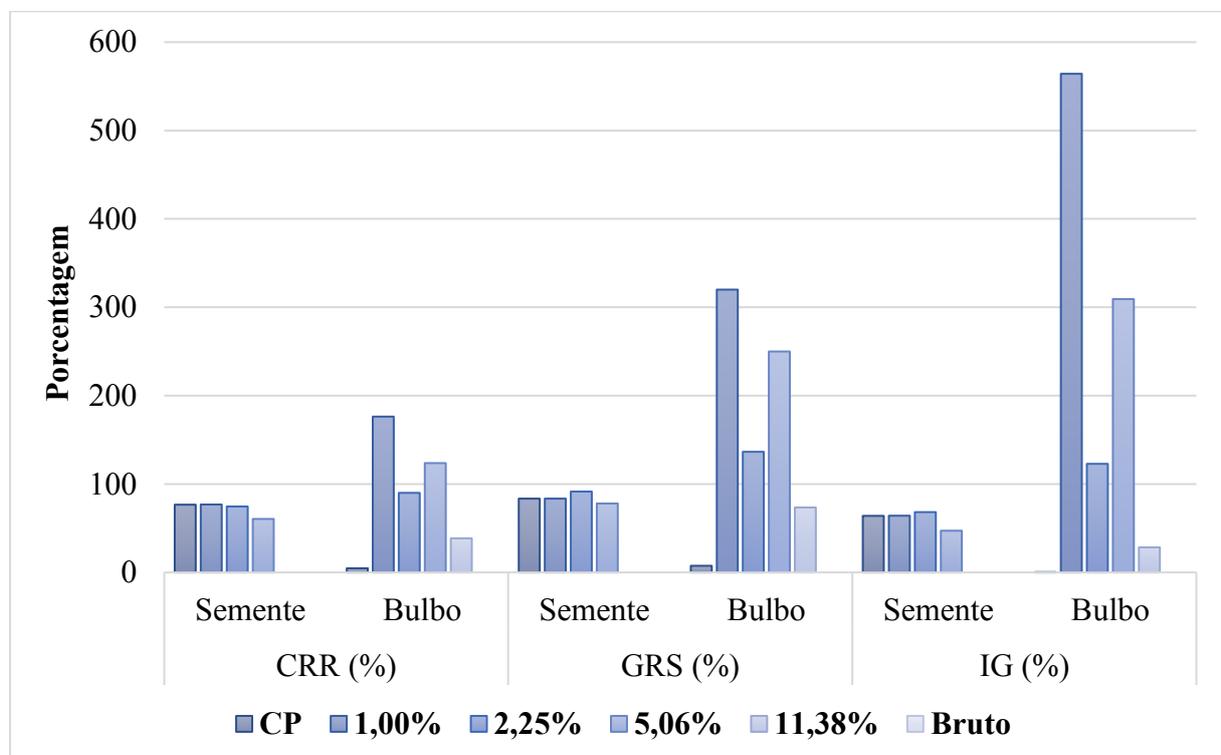
De acordo com Silva *et al.*, (2022), o pH não apresentou correlação com o índice de germinação em sementes de *Brassica oleracea var capitata* (repolho), em contrapartida, o nitrogênio amoniacal total apresentou correlação negativa aos índices de germinação, indicando que quanto maior os valores de N-NH<sub>3</sub>, menor foi o IG do organismo testado.

Gomes (2022) por sua vez, verificou que o lixiviado apresentou pH 8,3 e concentrações de 1289,44 mg.L<sup>-1</sup> de nitrogênio amoniacal para a mesma área de estudo dessa pesquisa no período de junho a novembro de 2016. Silva *et al.*, (2019), por sua vez, observou que o pH e o NAT apresentaram, respectivamente, valores de 8,0 e 3048 mg.L<sup>-1</sup>, em lixiviado de aterro sanitário localizado no semiárido brasileiro. Já Zegzouti *et al.*, (2020), analisaram o lixiviado de dois aterros sanitários situado em clima semiárido no Marrocos, e obtiveram resultados de pH em 6,8 e N-NH<sub>3</sub> de 6335,21 mg.L<sup>-1</sup> no aterro de Marrakesh e pH de 8,1 e N-NH<sub>3</sub> de 6149 mg.L<sup>-1</sup> no aterro de Greater Agadir.

- **Fitotoxicidade dos testes metodológicos**

Para determinar a melhor metodologia de ensaio de genotoxicidade e mutagenicidade de lixiviado de aterro sanitário em *Allium cepa* foi utilizado a análise multicritério utilizando o método TOPSIS (Quadro 5), no qual os critérios de entrada foram os seguintes parâmetros: Germinação Relativa Total (GRT) e Crescimento Relativo das Raízes (CRR) e Índice de Germinação (IG), conforme pode ser observado na Figura 22.

Figura 22: Resultados da fitotoxicidade dos testes metodológicos



Fonte: Autora (2024)

Conforme observado na Figura 22, o lixiviado diluído a 11,38% apresentou um IG<50%, como também não houve germinação do organismo-teste quando exposto ao lixiviado bruto, o que indica uma alta fitotoxicidade desse efluente quando diluído em concentrações superiores a 11,38%. Segundo Zucconi *et al.*, (1985), o lixiviado possui elevada fitotoxicidade quando o IG<50%, moderada fitotoxicidade com IG entre 50-80%, sem fitotoxicidade quando o IG>80%, e possui efeito estimulante para as plantas quando o IG=100%. Silva *et al.*, (2022), observaram alta fitotoxicidade do lixiviado diluído em concentrações superiores a 7,6% em sementes de *Brassica oleracea var capitata* (repolho), enquanto Nascimento *et al.*, (2022), obtiveram o mesmo resultado em sementes de *Solanum lycopersicum* (tomate) e *Brassica oleracea* (repolho) quando expostas ao lixiviado diluído em concentrações superiores a 5%.

De acordo ainda com a Figura 22 e a Tabela 8, para todos os parâmetros analisados, os resultados para o bulbo de *Allium cepa* foram mais satisfatórios do que os resultados obtidos em sementes do mesmo bioindicador, com exceção do Controle Positivo (CP), em que os resultados observados foram mais satisfatórios em sementes do que em bulbos do organismo-teste.

Tabela 8: Ranking dos testes metodológicos obtido pelo método TOPSIS

DILUIÇÃO	RANK	
	Semente	Bulbo
CP	1°	2°
1,00%	2°	1°
2,25%	2°	1°
5,06%	2°	1°
11,38%	2°	1°
Bruto	0°	0°

Fonte: Autora (2024)

De acordo com os resultados dos testes metodológicos expostos, a melhor metodologia para análise de toxicidade em lixiviados de aterros sanitários é a com bulbos de *Allium cepa*, seguindo a metodologia de Meneguetti *et al.*, (2012) e Oliveira *et al.*, (2022).

De uma maneira geral, os testes metodológicos empregados nessa pesquisa são interessantes para analisar lixiviado de aterro sanitário quando à sua toxicidade. Podendo ser empregado em outros empreendimentos em diferentes localidades, levando em consideração aspectos como: infraestrutura e condições operacionais do aterro sanitário, fatores climáticos, tipologia dos resíduos sólidos, entre outros.

## 5.2 Caracterização do lixiviado

Com o intuito de caracterizar e definir a idade do lixiviado analisado nos testes biológicos de toxicidade, foi realizado a caracterização físico-química do efluente coletado no mês de dezembro de 2023. Essa caracterização foi dividida em quatro grupos, sendo eles: a) orgânicos; b) inorgânicos; c) metais essenciais e d) metais pesados, conforme pode ser observado na Tabela 9.

Tabela 9: Caracterização do lixiviado

	PARÂMETRO	UNIDADE	RESULTADO	VMP*
<b>Orgânico</b>	DBO <sub>5</sub>	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	40.600	200,0 <sup>2</sup>
	DQO	mg.O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	6.090	
	DBO <sub>5</sub> /DQO	*	6,7	*
<b>Inorgânico</b>	pH	*	8,33	5 a 9 <sup>1</sup>
	Temperatura	°C	32,60	< 40 <sup>1</sup>
	Ácidos Graxos Voláteis	mgH <sub>AC</sub> .L <sup>-1</sup>	840,00	
	Alcalinidade Total	mg.L <sup>-1</sup>	9.750,00	
	Cloreto	mg.L <sup>-1</sup>	5.998,14	
	Nitrogênio Amoniacal Total	mg.L <sup>-1</sup>	2.219,00	20,0 <sup>1</sup>
	Nitrato	mg.L <sup>-1</sup>	122,34	10,0 <sup>2</sup>
	Nitrito	mg.L <sup>-1</sup>	1,64	1,0 <sup>2</sup>
Sulfato	mg.L <sup>-1</sup>	975,00	500,0 <sup>2</sup>	
<b>Metais Essenciais</b>	Cálcio	mg.L <sup>-1</sup>	15,40	
	Cobre	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,008	1,0 <sup>1</sup>
	Ferro	mg.L <sup>-1</sup>	1,039	15,0 <sup>1</sup>
	Fósforo	mg.L <sup>-1</sup>	14,52	
	Magnésio	mg.L <sup>-1</sup>	70,20	
	Manganês	mg.L <sup>-1</sup>	0,1634	1,0 <sup>1</sup>
	Níquel	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,002	2,0 <sup>1</sup>
	Potássio	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,008	
	Zinco	mg.L <sup>-1</sup>	0,3319	5,0 <sup>1</sup>
<b>Metais Pesados</b>	Alumínio	mg.L <sup>-1</sup>	1,992	10,0 <sup>2</sup>
	Arsênio	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,01	0,5 <sup>1</sup>
	Cádmio	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,001	0,2 <sup>1</sup>
	Chumbo	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,01	0,5 <sup>1</sup>
	Cobalto	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,007	
	Cromo	mg.L <sup>-1</sup>	0,6604	0,5 <sup>3</sup>
	Mercúrio	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,001	0,01 <sup>1</sup>
	Urânio	mg.L <sup>-1</sup>	< 0,002	

Legenda: \*VMP – Valor Máximo Permitido; <sup>1</sup> VMP de acordo com a Resolução CONAMA n° 430/2011; <sup>2</sup> VMP de acordo com Resolução COEMA n° 02/2017; <sup>3</sup> VMP de acordo com a Resolução CONAMA n° 357/2005.

Fonte: Autora (2024)

Destaca-se que os parâmetros orgânicos são a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>) e Demanda Química de Oxigênio (DQO), como também a relação DBO<sub>5</sub>/DQO, e com esses parâmetros foi possível determinar a biodegradabilidade do lixiviado analisado.

Quanto aos parâmetros inorgânicos, foram realizadas análises de pH; temperatura; Ácidos Graxos Voláteis (AVG); Alcalinidade Total (AT); Cloreto; Dureza Permanente, Temporária e Total; Fósforo Total; Nitrogênio Amoniacal Total (NAT); Nitrito; Nitrato e Sulfato, sendo que todos os parâmetros supracitados contribuem na toxicidade do lixiviado.

Em relação aos metais, esses foram divididos em duas categorias: metais que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas, e metais pesados, que são tóxicos mesmos que em baixas concentrações.

Os metais essenciais analisados nessa pesquisa foram Cálcio (Ca), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Magnésio (Mn), Manganês (Mg), Níquel (Ni), Potássio (K) e Zinco (Zn). E os metais pesados foram Alumínio (Al), Arsênio (As), Cádmiu (Cd), Chumbo (Pb), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Mercúrio (Hg) e Urânio (U) (Tabela 9). Demais metais foram analisados e os resultados obtidos se encontram no ANEXO A.

A composição do lixiviado de aterro sanitário é variável devido às variações na composição e no teor de umidade dos resíduos, como também por fatores sazonais como temperatura e precipitação (Costa *et al.*, 2019). O estudo desse efluente é essencial para promover tomadas de decisões relacionadas à tratabilidade do lixiviado, além de proporcionar a avaliação do comportamento do aterro ao longo dos anos (Sasaki *et al.*, 2023). A idade do aterro é um parâmetro importante, pois permite avaliar a estabilização biológica dos resíduos e a biodegradabilidade do lixiviado gerado.

De acordo com Foo e Hameed (2009), a idade do lixiviado pode ser classificada em três categorias, sendo jovem, para aterros com idade inferior a 5 anos, intermediário com idade entre 5 a 10 anos e maduro para aterros com mais de 10 anos de operação. A partir dessa classificação, o lixiviado do aterro sanitário objeto desse estudo é classificado como intermediário, tendendo ao velho, visto que a operação do empreendimento se iniciou em 2015, apresentando, portanto, 9 anos de operação.

O grau de estabilização do lixiviado está associado ao pH, pois esse parâmetro apresenta relação com a degradação dos resíduos sólidos (Sasaki *et al.*, 2023). Os resultados

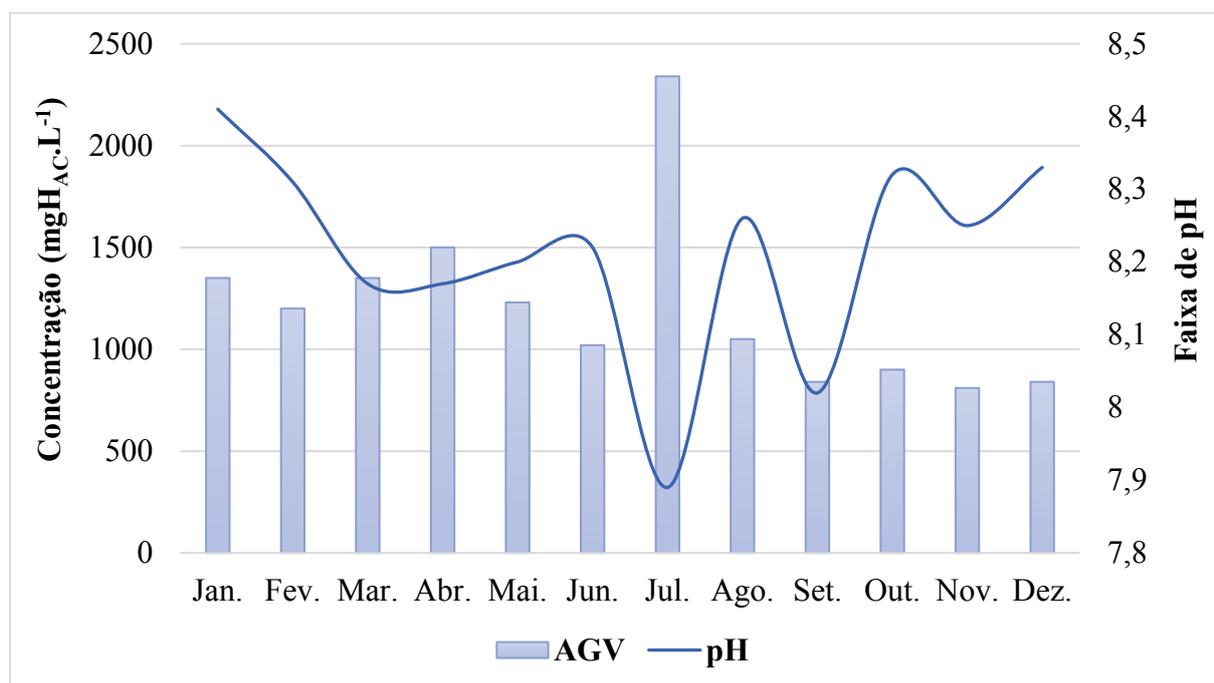
obtidos nesta etapa da pesquisa para o mês de dezembro de 2023 demonstram que o lixiviado se encontra em estado alcalino, apresentando pH na faixa de 8,33. O pH em estado mais alcalino indica que houve redução da carga orgânica no lixiviado, sugerindo que o processo de biodegradação dos resíduos sólidos se encontra na fase metanogênica (Pohland e Harper, 1983; Kjeldsen *et al.*, 2002; Castilhos Júnior *et al.*, 2003). Contudo, o Aterro Sanitário em estudo ainda se encontra em operação, o que permite a entrada de resíduos novos, levando à geração de lixiviado fresco. Além disso, a constância dos valores, assim como as pequenas variações na faixa do pH entre 7,5 a 9,0, podem sugerir que o lixiviado encontra-se estabilizado (Abunama *et al.*, 2021).

Os estudos de Nascimento *et al.*, (2022) e Silva *et al.*, (2023), para o lixiviado do Aterro Sanitário em estudo, apresentaram, respectivamente, valores médios de pH em 8,4 no ano de 2019 e 8,15 para o ano de 2022, resultados próximos ao encontrado nessa pesquisa. Filho *et al.*, (2017), obtiveram uma faixa de pH 8,69 no lixiviado de um aterro sanitário em Mossoró – RN, que também está situado em clima semiárido brasileiro. Comparando os valores de pH do lixiviado de outros aterros sanitários localizados em condições climáticas semelhantes ao do empreendimento estudado, vale destacar que, o estudo de Vahabian *et al.*, (2019), realizado em Hamedan – Irã, o pH do lixiviado apresentou-se na faixa de 8,00. Já no estudo de Siddiqi *et al.*, (2022), efetuado em Mascate – Omã, os valores do pH foram de 8,54.

De acordo com Ribeiro *et al.*, (2021), o pH se apresentando acima da neutralidade é um indicativo de que o aumento desse parâmetro se dá pelo consumo dos Ácidos Graxos Voláteis (AGV), os valores desse parâmetro no mês de dezembro/2023 são de 840 mgH<sub>AC</sub>.L<sup>-1</sup>. A elevação do pH ocorre por meio da catálise dos ácidos orgânicos, devido ao consumo do AGV ser realizado por microrganismos anaeróbios, que possuem metabolismo lento e se instalam progressivamente (Egreja Filho, 1996; Souto e Povinelli, 2007), como pode ser observado na Figura 23.

Observa-se por meio da Figura 23, os valores de AGV, o qual normalmente são inversamente proporcionais as faixas de pH, como por exemplo no mês de julho, em que se obteve a maior concentração de ácidos graxos voláteis e o pH se apresentou próximo à neutralidade. Nos meses de janeiro, fevereiro, outubro, novembro e dezembro, a concentração de AGV foram menores em pH mais alcalino, indicando que nesse período houve um maior consumo dos ácidos graxos voláteis pelos microrganismos anaeróbios.

Figura 23: Relação do pH com ácidos graxos voláteis do lixiviado do Aterro Sanitário em estudo no ano de 2023



Fonte: Acervo de Pesquisa (2024)

Resultados semelhantes foram observados no trabalho de Gomes *et al.*, (2018), cuja realização se deu no mesmo campo experimental. Dessa forma, as concentrações de AGV obtidas pelos autores oscilaram entre 6.900,00 a 1.800,00 mgH<sub>AC</sub>.L<sup>-1</sup> no período de junho a novembro de 2016, já os meses de setembro, outubro e novembro do mesmo ano apresentam as menores concentrações desse parâmetro, corroborando com os resultados desta pesquisa.

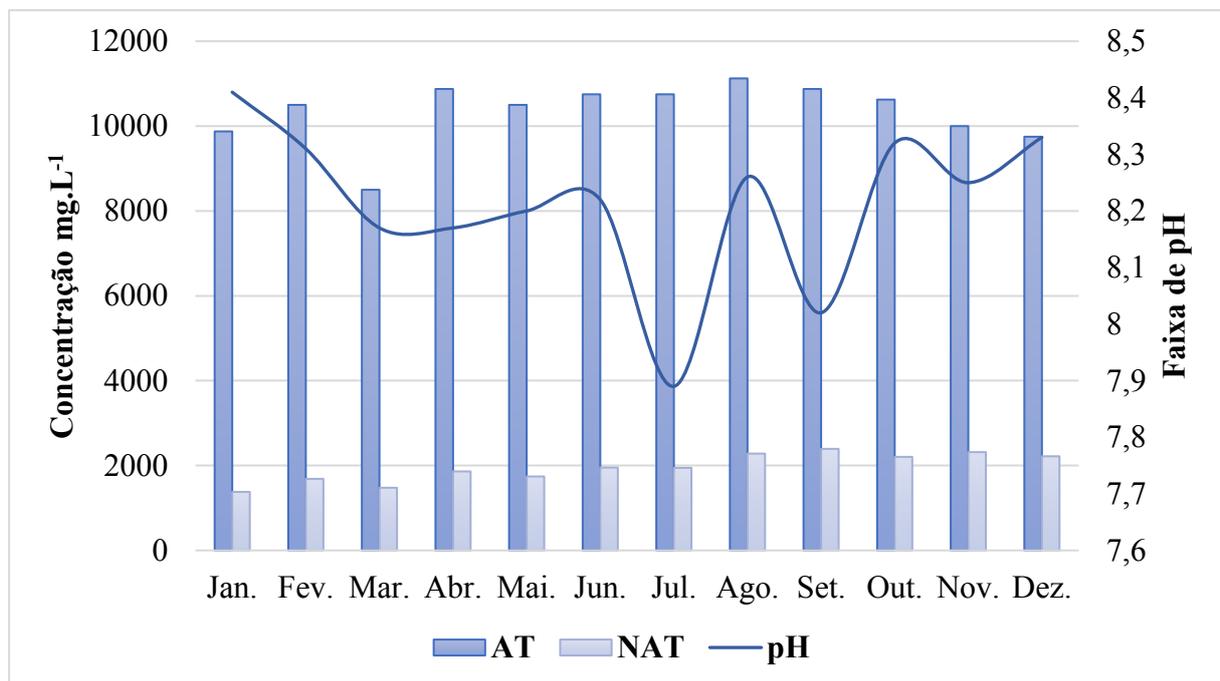
Mallick *et al.*, (2024), analisaram as características físico-químicas do lixiviado de dois aterros sanitários situados nos Estados Unidos, e obtiveram concentrações de AGV de 750,00 mgH<sub>AC</sub>.L<sup>-1</sup> no aterro localizado na Virgínia e 1.628,00 mgH<sub>AC</sub>.L<sup>-1</sup> no aterro localizado em Ohio, resultados semelhantes aos encontrados no lixiviado do Aterro Sanitário em estudo durante o ano de 2023.

A Alcalinidade Total (AT) do lixiviado de aterros sanitários possui relação com o processo de dissolução e decomposição bioquímica (Naveen *et al.*, 2017; Sasaki *et al.*, 2023), liberando NH<sub>3</sub>. As concentrações de alcalinidade total e o nitrogênio amoniacal total (NAT) são afetados pelo pH, isso porque quando se encontra em estado alcalino aumenta o potencial tóxico da amônia. Os valores de AT e NAT encontrados no lixiviado do Aterro Sanitário em estudo no mês de dezembro/2023 foram de 9.750,00 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup> e 2.219,00 mg.L<sup>-1</sup>,

respectivamente. Os altos valores de AT podem justificar o pH se encontrar acima da neutralidade.

Conforme pode ser observado na Figura 24, o período entre os meses de agosto a dezembro foi o que apresentou concentrações de nitrogênio amoniacal acima de 2.200,00 mg.L<sup>-1</sup>, visto que, os valores obtidos de pH variaram entre 8,02 a 8,33, enquanto que os teores de alcalinidade total oscilaram entre 11.125,00 a 9.750,00 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>.

Figura 24: Relação do pH com as concentrações de alcalinidade total e nitrogênio amoniacal total no lixiviado do Aterro Sanitário em estudo no ano de 2023



Fonte: Acervo de Pesquisa (2024)

Os indicadores AT e NAT possuem correlação entre si, pois o nitrogênio amoniacal total é o maior contribuinte para a formação de alcalinidade total em lixiviados de aterros sanitários (Ferreira, 2010, Gomes *et al.*, 2018). Nascimento *et al.*, (2022), obteve valores médios de NAT e AT 2.003,00 mg.L<sup>-1</sup> e 9.750,00 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>, respectivamente, no lixiviado do Aterro Sanitário em estudo, no período entre março e dezembro de 2019.

Entre os compostos tóxicos presentes no lixiviado, o nitrogênio amoniacal têm sido reconhecido como uma das principais ameaças aos organismos aquáticos, pois podem impedir a nitrificação, causar efeitos tóxicos nos organismos vivos e estimular o crescimento de algas em altas concentrações (> 100 mg.L<sup>-1</sup>) (Uygur e Kargi, 2004; Sakar *et al.*, 2017; Keyikoglu *et al.*, 2021). Zegzouti *et al.*, (2020), obteve valores de N-amoniaco na faixa de 5931,25 mg.L<sup>-1</sup>

para o lixiviado de aterro sanitário novo, 5226,13 mg.L<sup>-1</sup> para aterro com idade intermediária e 3112,68 mg.L<sup>-1</sup> em aterro fechado, todos localizados no Irã. Naveen *et al.*, (2017), encontrou valores de AT semelhantes ao valor obtido neste trabalho, variando entre 10.800,00 e 11.200,00 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>.

Cabe ressaltar que elevados valores de alcalinidade resultam no tamponamento do lixiviado de aterros sanitários, impedindo variações bruscas no pH (Nascimento *et al.*, 2022), como observado nessa pesquisa, em que o pH variou entre 7,9 e 8,4.

O nitrito e nitrato são íons inorgânicos constituintes típicos em lixiviados (Qian *et al.*, 2024). Os valores de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> obtidos nessa pesquisa foram de 1,64 e 122,34 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Gajski, Oreščanin e Garaj-Vrhovac (2012), encontraram valores de 1,00 mg.L<sup>-1</sup> de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e 134,00 mg.L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em lixiviado de aterro sanitário localizado na cidade de Rovinj – Croácia, resultados próximos aos obtidos no lixiviado deste estudo.

Além disso, o sulfato e cloreto contribuem com uma porção substancial de ânions em lixiviados de aterros sanitários (Qian *et al.*, 2024). A razão sulfato/cloreto reflete o grau de estabilização do lixiviado, e a diminuição dessa razão pode ser atribuída a redução na concentração inicial de sulfato, como resultado das condições anaeróbias prevalentes no aterro, durante as quais os sulfatos são reduzidos a sulfetos (Tatsi e Zouboulis, 2002).

Os valores de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e Cl<sup>-</sup> encontrados nesta pesquisa é de 975,00 mg.L<sup>-1</sup> e 5.998,14 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Altos valores de Cl<sup>-</sup> pode indicar a presença de sais solúveis nos resíduos sólidos (Naveen *et al.*, 2017), e a razão SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/Cl<sup>-</sup> é de 0,16, indicando, assim, que houve a redução de sulfato para sulfeto no lixiviado do período analisado. Alamayehu *et al.*, (2019), obteve valores de 256,00 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup> e 1.852,00 mg.L<sup>-1</sup> de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, inversamente aos resultados obtidos nesse estudo. Huset *et al.*, (2011), encontrou valores 5.200,00 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup> em lixiviado de aterro sanitário localizado nos Estados Unidos. Enquanto Yasuhara *et al.*, (1997), obteve resultados de 930 mg.L<sup>-1</sup> de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, em efluentes de aterro situado no Japão. No Brasil, Silva *et al.*, (2019), apresentou resultados de 4.076,00 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sup>-</sup>.

Quanto aos parâmetros orgânicos, o lixiviado apresentou valores de 40.600,00 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> de DBO<sub>5</sub> e 6.090,00 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> de DQO, obtendo uma razão DBO<sub>5</sub>/DQO de 6,7, indicando que o lixiviado analisado possui biodegradabilidade alta. Altos valores de DBO indicam que o lixiviado apresenta elevados teores de matéria orgânica biodegradável, enquanto altos teores de DQO apontam elevadas concentrações de material recalcitrante. Zegzouti *et al.*, (2020), também observaram elevados teores de DBO<sub>5</sub> e DQO em lixiviado de aterro sanitário localizado no Marrocos, com a DBO<sub>5</sub> apresentando concentrações de 11.600,00 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> e

DQO de 19523,33 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. Siddiqi *et al.*, (2022), também obtiveram valores altos de DBO<sub>5</sub> e DQO, dispondo de 13.200,00 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> de DBO<sub>5</sub> e 33.600,00 mg.L<sup>-1</sup> de DQO.

Em relação aos metais essenciais, foi realizado análises de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, K, P e Zn e os resultados foram comparados com o Valor Máximo Permitido (VMP) estabelecido pela Resolução Conama n° 430/2011, que dispõe sobre o padrão de lançamento de efluentes. Os valores obtidos para Cu, Mn, Ni, e Zn estão dentro do VMP, enquanto o Fe se apresentou acima do VMP. A legislação não apresentou VMP para Ca, Mg, K e P.

Dentre os metais essenciais apresentados, elementos como Ca, K, Mg e K são macronutrientes importantes para as plantas, enquanto Cu, Fe, Mn, Ni e Zn são micronutrientes para esses indivíduos. Os baixos valores de metais essenciais presentes no lixiviado podem ser justificados em virtude da faixa de pH se apresentar acima da neutralidade, pois quanto mais alcalino for o pH, maior será a solubilização dos metais no efluente, diminuindo assim, a toxicidade do lixiviado por metais.

Ololade *et al.*, (2019), obteve valores de 489,00 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, 110,00 mg.L<sup>-1</sup> de Mg, 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de Mn e 110 mg.L<sup>-1</sup> de K, em lixiviado de aterro sanitário localizado na África do Sul.

Em Multaqa – Omã, Siddiqi *et al.*, (2022), apresentou valores médios de 109,32 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, 1,83 mg.L<sup>-1</sup> de Cu, 26,47 mg.L<sup>-1</sup> de Fe, 1,16 mg.L<sup>-1</sup> de Mn, 4,28 mg.L<sup>-1</sup> de K, 1,06 mg.L<sup>-1</sup> de P, Ni e Zn foram abaixo do limite de detecção, enquanto em Barka – Omã, os mesmos autores obtiveram resultados médios de 34,54 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, 2,47 mg.L<sup>-1</sup> de Cu, 16,69 mg.L<sup>-1</sup> de Fe, 0,65 mg.L<sup>-1</sup> de Mn, 4,98 mg.L<sup>-1</sup> de K, 0,72 mg.L<sup>-1</sup> de P, Ni e Zn também foram abaixo do limite de detecção.

Em João Pessoa – Brasil, Silva *et al.*, (2019), tiveram resultados de 242,00 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, 21,00 mg.L<sup>-1</sup> de P, 199,00 mg.L<sup>-1</sup> de Mg, 1982 mg.L<sup>-1</sup> de K. Já Silva *et al.*, (2023), obtiveram valores médios de 0,62 mg.L<sup>-1</sup> de Fe, 0,82 mg.L<sup>-1</sup> de Mn e 0,20 mg.L<sup>-1</sup> de Zn, em lixiviado de aterro localizado no interior da Paraíba – Brasil.

Coelho *et al.*, (2015), apresentaram valores médios de 10,44 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, 0,10 mg.L<sup>-1</sup> de Cu, 5,07 mg.L<sup>-1</sup> de Fe, 18,38 de mg.L<sup>-1</sup> Mg, 3,66 mg.L<sup>-1</sup> de Mn, 2,08 mg.L<sup>-1</sup> de Ni, 58,55 mg.L<sup>-1</sup> de K, 4,90 mg.L<sup>-1</sup> de P, 1,13 mg.L<sup>-1</sup> de Zn, em lixiviados de aterro localizado em Mossoró/RN. Com exceção do Zn, os demais elementos analisados pelos autores se apresentaram acima do VMP estabelecidos pelas leis brasileiras, inclusive o Cu, que se enquadrou na faixa de 0,1 a 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, sendo tóxicos para plantas.

Quanto aos metais pesados, os quais são tóxicos mesmo que em baixas concentrações, os resultados apresentados no lixiviado analisado foram de 1,99 mg.L<sup>-1</sup> de Al, < 0,01 mg.L<sup>-1</sup> de

As, < 0,001 mg.L<sup>-1</sup> de Cd, < 0,01 mg.L<sup>-1</sup> de Pb, < 0,007 mg.L<sup>-1</sup> de Co, 0,6604 mg.L<sup>-1</sup> de Cr, < 0,001 mg.L<sup>-1</sup> de Hg e < 0,002 mg.L<sup>-1</sup> de U.

Os elementos como As, Cd, Pb e Hg foram comparados ao VMP estabelecido pela Resolução Conama n° 430/2011, em que todos estiveram dentro do valor máximo permitido para lançamento de efluentes. Já o Cr foi comparado com o VMP da Resolução Conama n° 357/2005 e o resultado obtido esteve acima do valor máximo permitido para lançamento de efluentes.

O Al por sua vez, foi comparado com o VMP da Resolução Coema n°02/2017 e está dentro do valor máximo permitido para lançamento de efluentes no estado do Ceará. Os demais elementos não possuem VMP determinados por legislação.

Os metais pesados estão amplamente distribuídos na maioria dos lixiviados de aterros sanitários, mas em baixas concentrações, quando comparados com os parâmetros convencionais (Qian *et al.*, 2024).

Vahabian *et al.*, (2019), obteve valores médios de 1,278 mg.L<sup>-1</sup> de Al, 0,256 mg.L<sup>-1</sup> de As, 0,189 mg.L<sup>-1</sup> de Pb, 0,175 mg.L<sup>-1</sup> de Cr e 0,562 mg.L<sup>-1</sup> de Hg, em lixiviado de aterro localizado em Hamedan – Irã. Os resultados de Al foram próximo ao encontrado no lixiviado desta pesquisa, enquanto os valores de Cr obtido pelos autores estão abaixo da concentração do mesmo elemento do lixiviado analisado neste estudo. Siddiqi *et al.*, (2022), apresentou valor médio de 10,42 e 10,41 mg.L<sup>-1</sup> de Cr e os elementos como Al, As, Hg e Pb possuíram resultados abaixo do limite de detecção para ambos os lixiviados analisados pelos autores.

Já Silva *et al.*, (2023), obteve valores médios de 0,74 mg.L<sup>-1</sup> de Cr e 0,04 mg.L<sup>-1</sup> de Pb para lixiviado de aterro localizado no semiárido brasileiro. Coelho *et al.*, (2015), analisaram o lixiviado de aterro sanitário localizado em Mossoró – Brasil, e apresentaram valores médios de 2,81 mg.L<sup>-1</sup> de Pb e 0,13 mg.L<sup>-1</sup> de Cd. Elevados valores de metais pesados em lixiviados de aterros sanitários é resultado pela grande presença de materiais eletrônicos e plásticos nos RSU.

Destaca-se de maneira geral que o lixiviado do Aterro Sanitário em estudo pode ser considerado tóxico. Uma vez que apresenta metais pesados, mesmo que em baixas concentrações, como também possui elevados teores de matéria orgânica, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, ácidos graxos voláteis, cloretos e sulfatos.

### 5.3 Fitotoxicidade

Devido os bulbos de *Allium cepa* terem apresentado um elevado índice de germinação no lixiviado diluído à 11,38% durante os testes metodológicos, nesta etapa da pesquisa foi realizado uma modificação nas concentrações do lixiviado analisado, seguindo as diluições realizadas por Nascimento *et al.*, (2022), que utilizaram o lixiviado diluído em 1, 5 e 10% e acréscimo da concentração de 15%. As concentrações de lixiviado utilizadas para os ensaios de fitotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade estão descritas no Quadro 5.

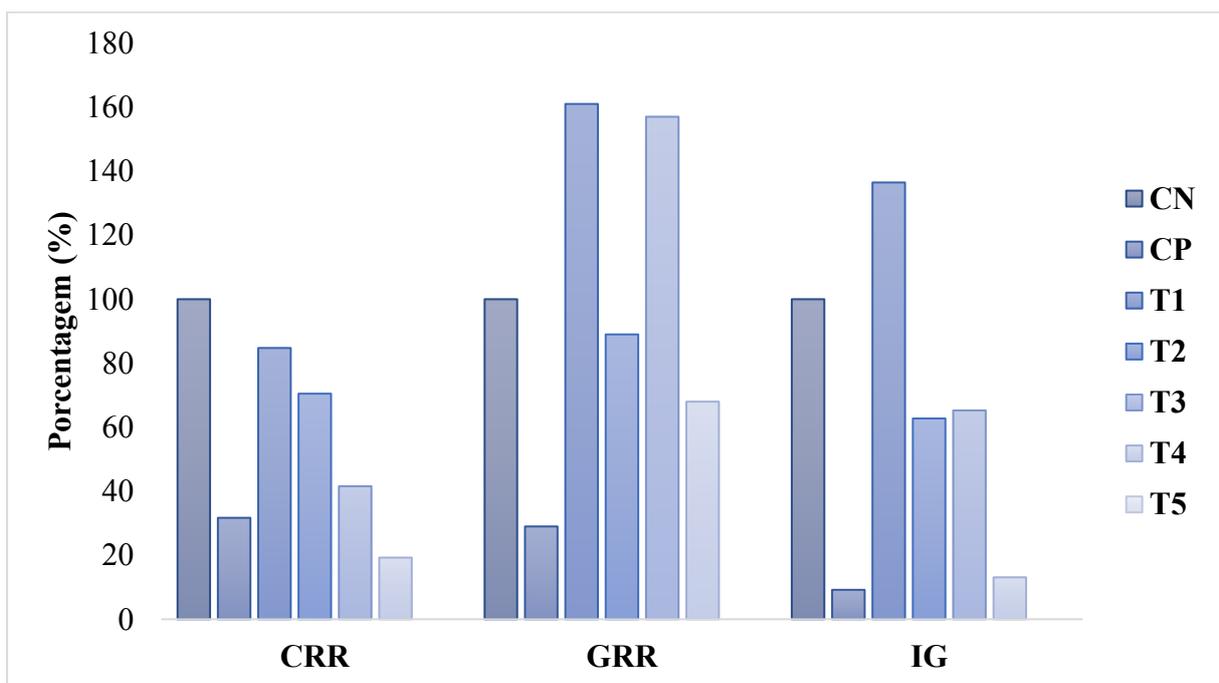
Quadro 5: Concentrações do lixiviado na análise de fitotoxicidade e análises biológicas

CONTROLE		LIXIVIADO				
CN	CP	T1	T2	T3	T4	T5
Água destilada	Paracetamol 750 mg/L <sup>-1</sup>	1%	5%	10%	15%	Bruto

Fonte: Autora (2024)

A Figura 25 ilustra os resultados do ensaio de fitotoxicidade em bulbos de *Allium cepa* por meio da análise de CRR, GRR e IG em diferentes concentrações de lixiviado de aterro sanitário, além das amostras controle positivo e negativo.

Figura 25: Fitotoxicidade do lixiviado em bulbos de *Allium cepa*



Fonte: Autora (2024)

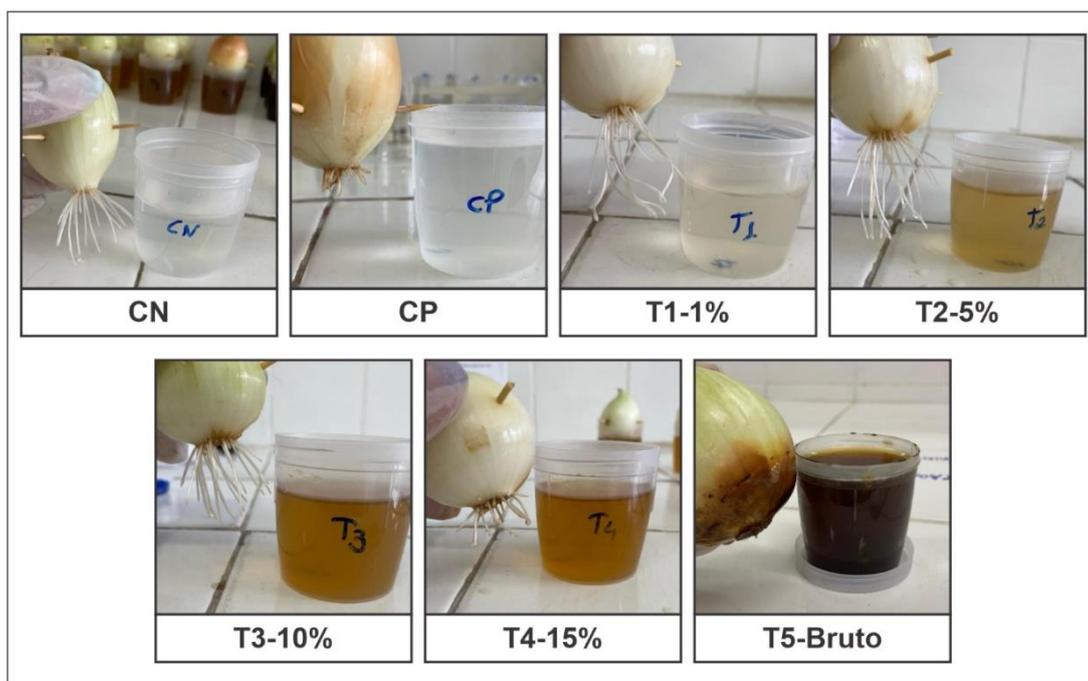
Observa-se, de maneira geral, que todos os indicadores foram decaindo à medida que a concentração do lixiviado aumentava. Verifica-se que o lixiviado à 1% apresentou um IG maior do que o CN (prova em branco), isso se dá em virtude dos contaminantes constituintes do lixiviado estarem diluídos em baixas concentrações e apresentando, portanto, efeito estimulantes para as plantas. Silva *et al.*, (2023), constatou o mesmo efeito estimulante em sementes de repolho quando o lixiviado estava em concentrações inferiores a 7%.

O lixiviado diluído a 15% apresentou um IG bem próximo ao do controle negativo, enquanto no lixiviado bruto não houve germinação, constatando assim, o efeito tóxico do lixiviado em elevadas concentrações.

O GRR e o CRR se mantiveram semelhante no CN, enquanto no lixiviado o GRR houve variações e o CRR obteve um decaimento linear à medida que a concentração do lixiviado aumentava. Gomes *et al.*, (2018) e Silva (2022), também obtiveram os índices de germinação relativa maior do que o índice de crescimento relativo. Isso acontece porque as plantas reagem a combinações específicas de luz, temperatura, umidade, substrato e concentrações de gases que são mais propícias para o estabelecimento de plântulas (Baskin e Baskin, 1998; Ghera, Benech-Arnold e Martinez-Ghera, 1992; Silva, 2022).

A Figura 26 apresenta o crescimento das raízes dos bulbos de *Allium cepa* em diferentes concentrações de lixiviado.

Figura 26: Crescimento das raízes dos bulbos de *Allium cepa*



Fonte: Autora (2024)

A toxicidade do lixiviado varia em função da composição físico-química do lixiviado e da espécie de plantas exposta ao efluente (Bialowiec, 2015). De acordo com Zucconi *et al.*, (1985), a fitotoxicidade é definida a partir do IG e é classificada em três classes, sendo elas: IG<50% (Alta fitotoxicidade), IG entre 50-80% (fitotoxicidade moderada), IG>80% (sem fitotoxicidade) e IG≥100% (apresenta efeito estimulante para as plantas).

Dentre as amostras de lixiviado e controle (positivo e negativo) analisadas, as que apresentaram alta fitotoxicidade foram CP (IG 9,19%), T4 (IG 13,10%) e T5 (não houve germinação). O lixiviado em diluído em 5 e 10% (T2 e T3) possuíram fitotoxicidade moderada, apresentando um IG de 62,73% e 65,25%, respectivamente. Enquanto que, o T1 obteve um IG de 136,46%, possuindo, assim, efeito estimulante para a *Allium cepa*.

No trabalho de Zegzouti *et al.*, (2020), o lixiviado também apresentou efeito estimulante para as plantas. Pellenz *et al.*, (2020), também observaram maiores índices de germinação e crescimento de raízes em sementes de *Lactuca sativa* (alface) em lixiviados diluído em concentrações menores. Enquanto Varveková *et al.*, (2020), verificaram o efeito inibitório do lixiviado em concentrações mais elevadas no crescimento de raízes de *Sinapis alba L.* (mostarda branca) e *Lemna minor L.* (lentilha).

Já no trabalho de Arunbabu *et al.*, (2017), o lixiviado em menores concentrações apresentou um aumento na germinação de sementes de *Vigna unguiculata* (feijão-fradinho). De acordo com os autores, o fato de as plantas apresentarem boa germinação no lixiviado em menores concentrações se dá em consequência de os poluentes constituintes estarem diluídos e assim, as plantas poderem absorver melhor os “nutrientes” do lixiviado.

#### **5.4 Genotoxicidade e Mutagenicidade**

A Análise Multivariada de Covariância indicou que houve uma diferença estatística entre as amostras controle e o lixiviado em diferentes concentrações, contudo, o Teste Univariado apontou que o Índice de Germinação (IG) não impactou nos Índices de Genotoxicidade (CAI) e Mutagenicidade (MutI). O Teste de Box à Homogeneidade da Matriz de Covariância apresentou um p-value<0,001, indicando que as amostras são homogêneas, portanto, o pressuposto foi atendido.

A Tabela 10 apresenta os resultados dos índices de CAI e MutI aplicados ao Teste T de Student. Não foi calculado CAI e MutI para o T5 (lixiviado bruto), pois não houve germinação das raízes, impossibilitando assim, avaliar as alterações celulares da *Allium cepa* exposta à amostra em questão.

Tabela 10: Resultados Índices de Genotoxicidade e Mutagenicidade

AMOSTRA	CAI (Média ± DP)	MutI (Média ± DP)
CN	1,67 ± 0,30	2,53 ± 1,86
CP	<b>9,93 ± 4,40*</b>	8,47 ± 9,42
T1	<b>8,27 ± 3,64*</b>	2,73 ± 0,61
T2	<b>13,20 ± 6,00*</b>	6,60 ± 2,65
T3	<b>15,87 ± 3,56*</b>	<b>6,07 ± 1,36*</b>
T4	<b>12,27 ± 5,31*</b>	<b>8,40 ± 2,69*</b>

Legenda: DP – Desvio Padrão; \*Significância de  $p < 0,05$

Fonte: Autora (2024)

O comparativo entre o controle negativo (CN) e o controle positivo (CP) apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ) para CAI, quando comparados na análise multivariada de covariância (MANCOVA), seguido do Teste T de Student, mostrando que o CP é válido para o índice de CAI. Entretanto, não houve significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre CN e CP para MutI, indicando que o CP para esse índice não é válido. Portanto, o CP só foi utilizado na comparação de genotoxicidade.

Todas as concentrações do lixiviado testado demonstraram significância estatística entre o controle negativo (CN) para o Índice de Alteração Cromossômica (CAI) (Figura 28), a mesma significância foi encontrada em relação ao controle positivo e negativo, conforme pode ser observado na Figura 27.

Figura 27: Gráfico descritivo do CAI nas amostras controle negativo e positivo

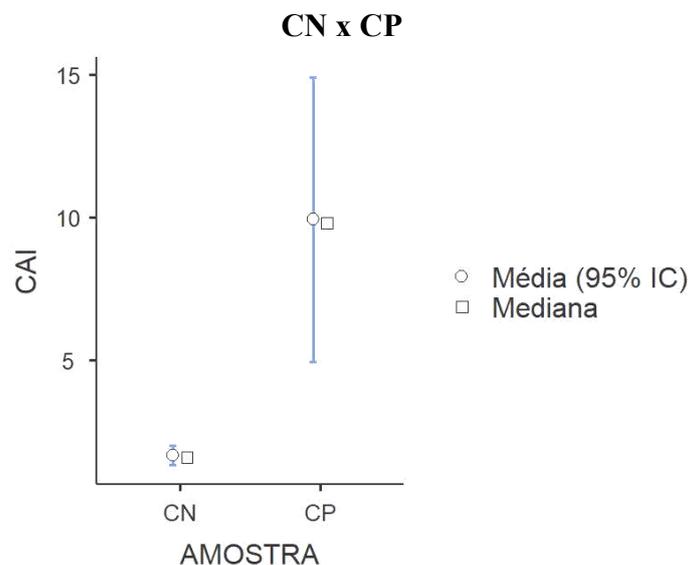
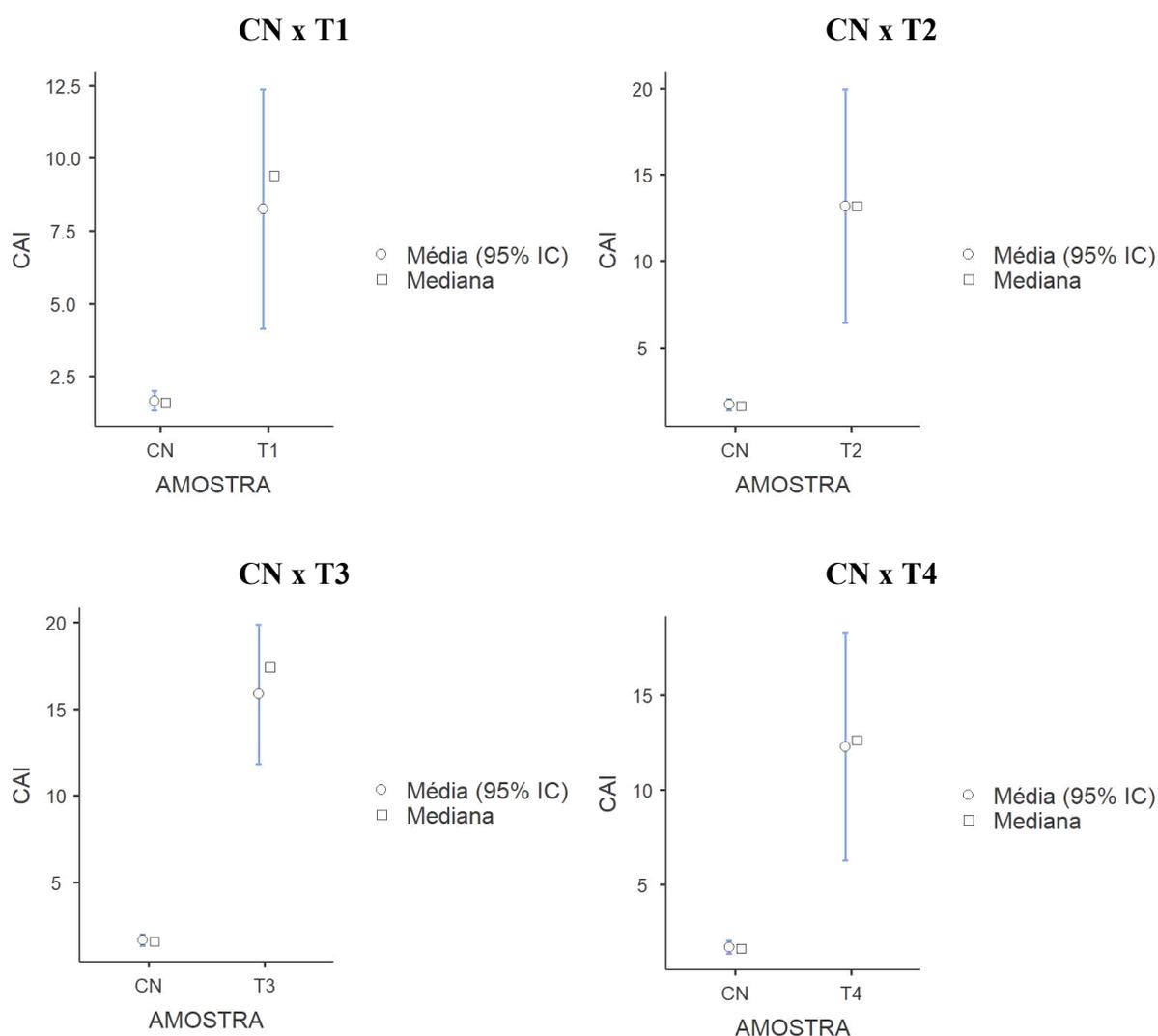


Figura 28: Gráficos descritivos do CAI nas amostras de lixiviado e controle negativo



Fonte: Autora (2024)

Quando um intervalo de confiança se sobrepõe a média do grupo oposto significa que não há diferença significativa entre as amostras analisadas. Isso não ocorreu nos gráficos apresentados na Figura 28, indicando, assim, que houve diferença estatística entre o CN e as amostras de lixiviado para a análise de genotoxicidade, ou seja, o lixiviado é genotóxico, mesmo que em baixa concentração.

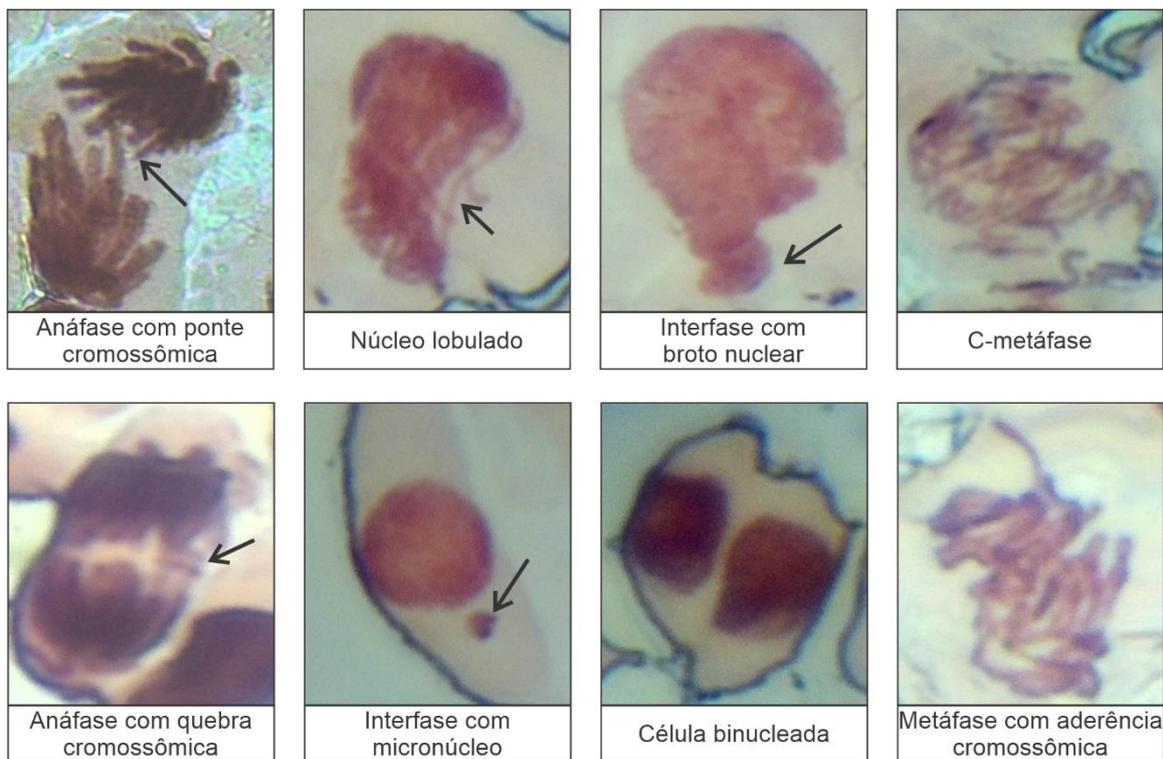
De acordo com os resultados obtidos, o índice de alteração cromossômica evoluiu à medida que a concentração do lixiviado aumentou, como pode ser observado na Tabela 10. O T4 apresentou um CAI menor do que T2 e T3, e isso pode ter ocorrido devido ao crescimento da raiz da *Allium cepa* ter sido significativamente menor nesse tratamento do que nas demais diluições do lixiviado, além das pontas das raízes estarem escurecidas, sendo um indicativo de que houve quebra mitótica.

Outro fator importante a ser destacado, é que mesmo que o lixiviado em baixas concentrações apresente efeito estimulante para o crescimento e desenvolvimento de plantas, esse fenômeno não impede que desenvolvam alterações no DNA da planta, afetando sua linhagem germinativa.

Destaca-se que quando o DNA está lesado ele pode expressar proteínas que gerem patologias ao próprio organismo que produz, e se esses forem consumidos por outros indivíduos podem também apresentar reações alérgicas ou outras doenças mais graves.

A Figura 29 apresenta algumas alterações celulares observadas pela análise de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* exposta ao lixiviado em diferentes concentrações analisado nesta pesquisa.

Figura 29: Alterações celulares encontradas nas células de *Allium cepa* exposta ao lixiviado



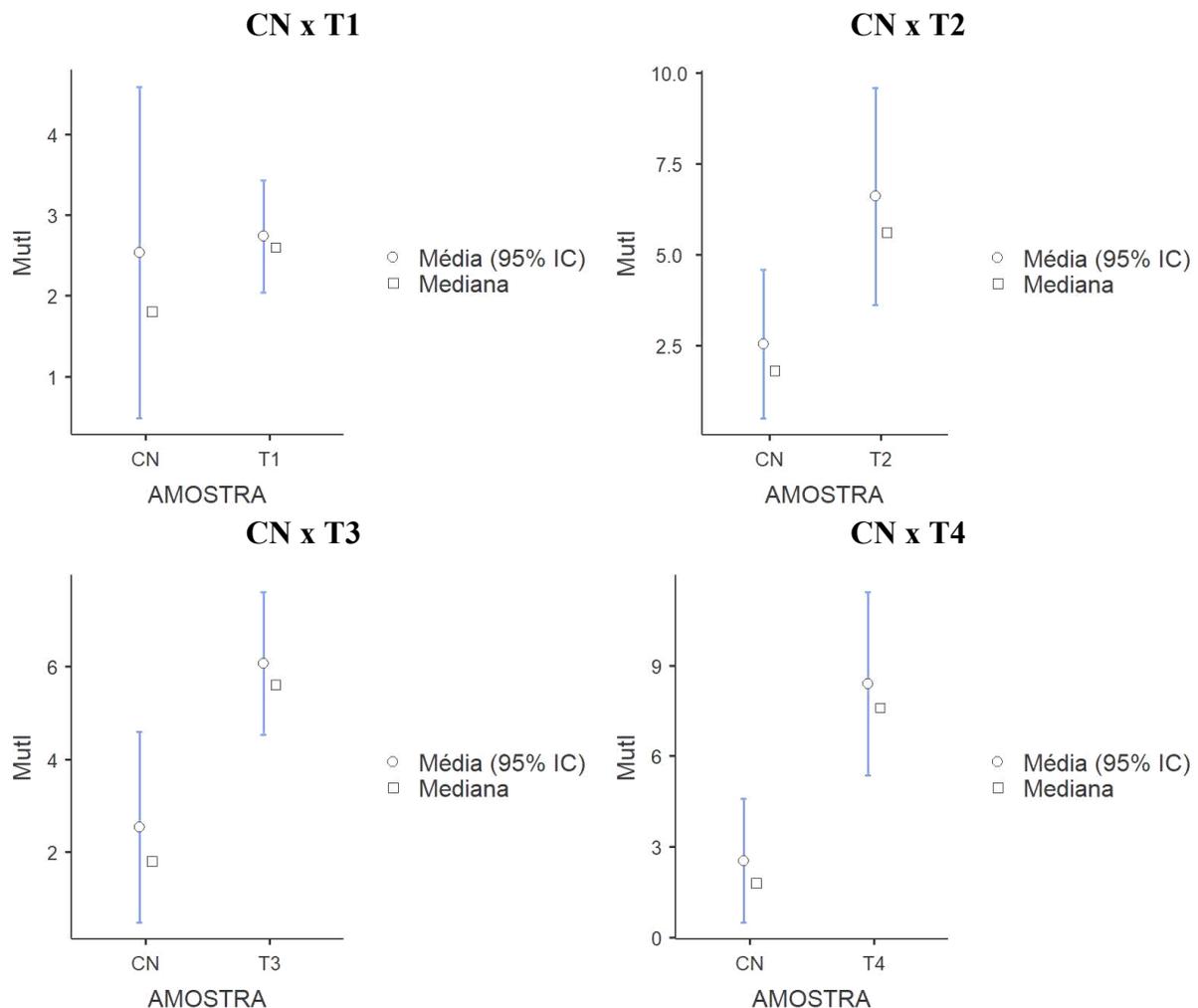
Fonte: Autora (2024)

Em relação à mutagenicidade (MutI), o comparativo entre o CN e T1 e T2 não demonstrou significância estatística, logo, o lixiviado nas concentrações de 1% e 5% não se apresentaram mutagênicos (Figura 28). Entretanto, o T3 e T4 obtiveram significância estatística  $p < 0,05$  em relação ao CN (Figura 28), indicando que o lixiviado analisado em concentração superior à 10% são mutagênicos. Vale ressaltar que, nem toda substância genotóxica é mutagênica, mas, toda substância mutagênica é genotóxica, e isso se comprovou com os

resultados obtidos nessa pesquisa, em que todas as diluições que apresentaram mutagenicidade também apresentaram genotoxicidade, e nem todas que apresentaram genotoxicidade foram mutagênicas, conforme pode ser observado na Tabela 10.

A Figura 30 apresenta os gráficos dos índices de mutagenicidade nas amostras de lixiviado e controle negativo.

Figura 30: Gráficos descritivos do MutI nas amostras de lixiviado e controle negativo



Fonte: Autora (2024)

De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), os efeitos aneugênicos<sup>4</sup> e clastogênicos<sup>5</sup> detectados por meio do sistema-teste *Allium cepa* podem ocorrer devido à presença de metais nas amostras analisadas. Elementos como o cromo e alguns de seus compostos possuem efeitos clastogênicos, que possuem ação direta no DNA, induzindo

<sup>4</sup> Cromossomos inteiros que não completam a migração anafásica da divisão celular

<sup>5</sup> Origina micronúcleos por meio de fragmentos cromossômicos acêntricos

alterações cromossômicas (Liu *et al.*, 1992; Leme e Marin-Morales, 2009; Klauck *et al.*, 2017; Alias *et al.*, 2020). Liu *et al.*, (1995), destacam os efeitos causados por outros metais, como magnésio, cobalto e mercúrio. Todavia, segundo Steinkellner *et al.*, (1998), o teste com *Allium cepa* se apresenta menos sensível aos metais como Arsênio, Cádmio, Chumbo, Cobre e Zinco.

Anand e Palani (2022), estudaram a toxicidade de lixiviados de aterros sanitários ativos e fechados, e o maior grau de dano ao DNA da *Allium cepa* foi causado por metais, como Cromo, Chumbo e Níquel. Ainda de acordo com os autores, os danos no DNA das células de *Allium cepa* ocasionados pelos metais ocorrem devido a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e pela quebra das ligações entre as bases nitrogenadas do DNA.

A capacidade do lixiviado causar efeitos genotóxicos e mutagênicos, mesmo que em baixas concentrações, já foi observada por outros autores utilizando diferentes bioensaios. Como por exemplo, Zegzouti *et al.*, (2020), que avaliaram a genotoxicidade e mutagenicidade em *Vicia faba* de lixiviado bruto e tratado de aterro sanitário localizado no Marrocos, e constataram que o lixiviado bruto em concentrações superiores a 10% causou um rompimento na mitose, impossibilitando a pontuação do micronúcleo (MN). Os resultados do teste de micronúcleo das concentrações remanescentes realizado pelos autores apontam que houve um aumento significativo da frequência de MN. Os autores também observaram que a frequência de micronúcleos aumentou progressivamente com o aumento da concentração do lixiviado, resultado similar ao encontrado nesta pesquisa.

Klauck *et al.*, (2013), analisaram o lixiviado de um aterro sanitário localizado no Rio Grande do Sul, e notaram que o efluente induziu uma redução no crescimento radicular da *Allium cepa*, entretanto, não apresentaram frequências significativas de alterações cromossômicas do bioindicador exposto ao contaminante em diferentes concentrações. Todavia, observaram que a frequência de anomalias cromossômicas totais foi mais elevada nas maiores concentrações do lixiviado.

Srivastava *et al.*, (2005) e Gamoñ *et al.*, (2019), apresentaram que o lixiviado diluído a 10% e 6,25% possuem capacidade em causar anomalias mitóticas e cromossômicas, além das alterações no DNA em células meristemáticas da *Allium cepa*.

A genotoxicidade e mutagenicidade em lixiviado bruto pode ser resultante de sua composição físico-química, como as elevadas concentrações de DQO e  $\text{NH}_4^+$  (Zegzouti *et al.*, 2020). Sang e Li (2004), demonstraram a correlação entre a genotoxicidade e a DQO do lixiviado. Em geral, a genotoxicidade do lixiviado podem estar relacionados com a presença de compostos orgânicos e metais pesados no efluente, induzindo assim, a formação de radicais livres e estresse oxidativo (Curtis *et al.*, 1988; Sang e Li, 2004).

A caracterização físico-química do lixiviado analisado nessa pesquisa demonstrou que o efluente apresenta elevadas concentrações de compostos orgânicos como DBO, DQO e AGV, como também possui altas concentrações de nitrogênio em forma de N-amoniacal, nitrito e nitrato, além da presença de metais, como cálcio, ferro, magnésio, manganês, zinco, alumínio e cromo, sendo que este último se apresentou em concentração superior à estabelecida pela legislação brasileira, além de induzir alterações cromossômicas, provocando danos ao DNA.

Diante o exposto, é possível afirmar que a genotoxicidade e mutagenicidade do lixiviado avaliado nessa pesquisa se dá pela elevada concentração dos compostos tóxicos constituintes no contaminante, que foram apresentados pela caracterização físico-química do efluente.

Destaca-se que embora esse estudo foi realizado com bulbos de *Allium cepa* em relação às alterações no material genético do bioindicador supracitado e de fato o lixiviado de aterro sanitário causa patologias às plantas. Estudos mais avançados devem ser feitos com relação aos seres humanos e outros animais. Contudo, pode-se dizer que o lixiviado de aterro sanitários devem possuir um tratamento adequado, uma vez que esse material entre em contato com outros seres vivos pode causar danos severos.

De uma maneira geral, pelo que foi proposto neste trabalho, é possível aplicar os testes de fitotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em lixiviado de outros aterros sanitários, inclusive, em locais onde há a geração de efluentes tóxicos. Ainda é possível recomendar para os órgãos ambientais exigirem os ensaios abordados nesta pesquisa no monitoramento ambiental de empreendimentos que gerem efluentes líquidos, por serem práticos, simples e apresentarem resultados confiáveis, conforme também apresentado por Meneguetti *et al.*, (2012), Carvalho *et al.*, (2017), Parvan *et al.*, (2020), Oliveira *et al.*, (2022).

## 6 CONCLUSÕES

O bioindicador e o método de análise desenvolvido nesta pesquisa foi o sistema-teste em bulbos de *Allium cepa*.

O lixiviado do aterro sanitário estudado possui uma idade considerada de aterro velho (10 anos).

O ensaio de fitotoxicidade do lixiviado em *Allium cepa* mostrou que esse efluente é tóxico em concentrações superiores à 15%, onde apresentou um Índice de Germinação (IG) de 13,10%. E apresentou efeito estimulante para o organismo-teste quando diluído em 1%, obtendo um IG de 136,46%. As concentrações intermediárias (5% e 10%) tiveram um IG de 62,75% e 65,25%, respectivamente, apontando, portanto, fitotoxicidade moderada.

Durante o período de ensaios foi determinado o potencial genotóxico e mutagênico do lixiviado e constatou-se que esse efluente pode causar alterações tanto na estrutura dos cromossomos, como alterações na sua organização molecular.

A observação da composição físico-química e dos efeitos tóxicos do lixiviado de aterro sanitário mostrou que o efluente apresenta potencial genotóxico e mutagênico, mesmo que em baixas concentrações.

Os altos índices de genotoxicidade e mutagenicidade no lixiviado de aterro sanitário é preocupante. Pois é um indicativo do potencial poluidor do efluente e caso ocorra contaminação ambiental por esse material, corroborará significativamente na desordem de um ecossistema.

Este estudo destaca a importância da avaliação ecotoxicológica do lixiviado de aterro sanitário e fornece um panorama do potencial poluidor da substância, e quando não coletado e tratado adequadamente, pode se tornar uma fonte de contaminação ambiental, aumentando o risco de consequências adversas aos organismos-vivos.

Mais estudos são necessários para elucidar os possíveis impactos do lixiviado num ecossistema, como um aumento no número de amostras e o tipo de organismos-testes, que possibilitará uma melhor compreensão dos potenciais efeitos adversos ao meio ambiente e à saúde pública, bem como auxiliar nas tomadas de decisão referente ao tratamento e disposição final do lixiviado.

Investigações adicionais são necessárias para explorar os potenciais efeitos genotóxicos e mutagênicos, além da toxicidade sistêmica de lixiviados nos principais órgãos e tecidos em sistemas biológicos. Além disso, é importante avaliar a bioacumulação e biomagnificação dos poluentes presentes no lixiviado.

## REFERÊNCIAS

ABUNAMA, T., OTHMAN, F., YOUNES, M. K. **Predicting sanitary landfill leachate generation in humid regions using ANFIS modeling.** Environmental Monitoring and Assessment, v. 190, n. 597, p. 1-15, 2018.

ADHIKARI, B.; DAHAL, K. R.; KHANAL, S. N. **A Review of Factors Affecting the Composition of Municipal Solid Waste Landfill Leachate.** International Journal of Engineering Science and Innovative Technology (IJESIT). v. 3, Issue 5, 2014.

AHMED, F.N.; LAN, C.Q. **Treatment of landfill leachate using membrane bioreactors: a review.** Desalination, v. 287, p. 41-54, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.12.012>

AKINBORO, A.; BAKARE, A.A. **Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn.** Journal of Ethnopharmacology, v. 112, p. 470–475, 2007.

ALABI, O; SORUNGBE, A; ADEOLUWA, Y. ***In vitro* mutagenicity and genotoxicity of raw and simulated leachate from plastic waste dumpsite.** Toxicology Mechanisms and Methods. 2019. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1566426>.

ALBERTINI, R.J. *et al.* **IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans.** *Mutation Research*, v. 463, p. 111–172, 2000.

ALBERTS, B. *et al.* **Fundamentos da Biologia Celular.** 4 ed. Porto Alegre: Artmed. p. 839. 2017.

ALCÂNTARA, P. B. **Avaliação da Influência da Composição de Resíduos Sólidos Urbanos no Comportamento de Aterros Simulados.** 2007. 366 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

ALEMAYEHU, T; MEBRAHTU, G; HADERA, A; BEKELE, D. **Assessment of the impact of landfill leachate on groundwater and surrounding surface water: a case study of Mekelle city, Northern Ethiopia.** *Sustain. Water Resour. Manag.* v. 5, p. 1641–1649, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40899-019-00328-z>.

ALIAS, C; FERETTI, D; BENASSI, L; ABBÁ, A; GELATTI, U; SORLINI, S; ZERBINI, I; PIOVANI, G. **The release of contaminants from steel slags and natural aggregates: Evaluation of toxicity and genotoxicity.** *Environmental and Molecular Mutagenesis.* 2020. <https://doi.org/10.1002/em.22407>.

ALMEIDA, V. L.; *et al.* **Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com DNA: uma introdução.** *Química Nova*, v. 28, p. 118-129, 2005.

ALONSO, T. P. **Condutividade Hidráulica de Solos Compactados em Ensaios com Permeâmetro de Parede Flexível.** Dissertação de Mestrado (Escola de Engenharia de São Carlos) – Universidade de São Paulo, 2005, 113 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION – WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 24 editions. Washington: APHA, 2023.

ANAND, N; PALANI, S. **A comprehensive investigation of toxicity and pollution potential of municipal solid waste landfill leachate**. Science of the Total Environment. v. 838. 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155891>.

ARAÚJO, P. **Análise do desempenho de um solo compactado utilizado na camada de cobertura de um aterro sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

ARAÚJO, L. **Avaliação do lixiviado de aterro sanitário: geração e tecnologias de tratamento**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Pernambuco, Caruaru, 2019.

ARUNBABU, V.; INDU, KS.; RAMASAMY, E.V. **Leachate pollution index as na effective tool in determining the phytotoxicity of municipal solid waste leachate**. Waste Management, v. 68, p.329-336, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 8419: apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos: procedimentos**. Rio de Janeiro, 1992.

ATHANÁSIO, C; PRÁ, D; RIEGER, A. **Water Quality of Urban Streams: The *Allium cepa* Seeds/Seedlings Test as a Tool for Surface Water Monitoring**. The Scientific World Journal, v. 2014, p. 7, 2014.

AZIZ, S.Q.; AZIZ, H.A.; YUSOFF, M.S.; BASHIR, M.J.K. **Leachate characterization in semiaerobic and anaerobic sanitary landfills: a comparative study**. Journal of Enviromental Management, v. 91.26082614, 2010.

BARBÉRIO, A. *et al.* **Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test**. Brazilian Journal of Biology, v. 69 n. 3, p. 837-842, 2009.

BARBÉRIO, A; VOLTOLINI, J; MELLO, M. **Standardadiation of bulb and root numbers for the *Allium cepa* test**. Ecotoxicology. Jun. 20(4): 927-935. 2011.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. **American Journal of Botany**, v. 75, n.2, p. 286-305, 1998.

BATISTA, M.M. **Eficiência do processo foto-Fenton solar em um fotorreator piloto no pós-tratamento do lixiviado do aterro sanitário metropolitando de João Pessoa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

BAUN, D. L.; CHRISTENSEN, T. H. **Speciation of heavy metals in landfill leachate: a review.** Waste Management & Research. vol 22, pp. 3-23. 2004.

BELLOUK, H; DANAOUCHE, M; MRABET, I; TANJI, K; KHALIL, F; NAWDALI, M; GHACHTOULI, N; ZAITAN, H. **Remediation of the landfill leachate of Fez city (Morocco) by sono-photo-Fenton process: Cost and phytotoxicity assessment.** Journal of Water Process Engineering. v. 56, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104565>

BEZERRA, D. **Evolução do comportamento dos resíduos sólidos urbanos em aterro sanitário sob aspectos mecânicos.** 2023. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2023.

BHALLA, B; SAINI, M; JHA, M. **Effect of age and seasonal variations on leachate characteristics of municipal solid waste landfill.** International Journal of Research in Engineering and Technology. 2319-1163. 2013.

BHATT, P; BHANDARI, G; BILAL, M. **Occurrence, toxicity impacts and mitigation of emerging micropollutants in the aquatic environments: recent tendencies and perspectives.** Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 10 (3), 107598, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107598>.

BIAŁOWIEC, A. **Transpiration as landfill leachate phytotoxicity indicator.** Waste management, v. 39, p. 189-196. 2015.

BICKHAM, J.W., SANDHUS, S., HEBERT, P.D.N., CHIKHI, L. and ATHWAL, R. **Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology.** Mutat. Res. n.463, p.33-51, 2000.

BOROUSHAKI, S. **Entropy-Based Weights for MultiCriteria Spatial Decision-Making.** Yearbook of the Association of Pacific Coast Geographers, vol. 79, p. 168–87, 2017.

BOSCOV, M. **Geotecnia Ambiental.** São Paulo: Oficina de Textos. 2008.

BRASIL. **Lei Federal nº 12.305, de 2 de agosto de 2010.** Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Brasília, DF. 2010.

BRASIL. **Decreto Nº 11.043, de 13 de abril de 2022.** Institui o Plano Nacional de Resíduos Sólidos. Brasília, DF. 2022.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005.

BRASIL. **Resolução CONAMA 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. 2011.

BUDI, S. Suliasih, B. A.; Othman, M.S.; Heng, L.Y.; Surif, S. **Toxicity identification evaluation of landfill leachate using fish, prawn and seed plant.** Waste Management, v. 55, p. 231-237, 2016.

CAIUSCA, A. **Mitose: Organismo constantemente realiza divisões celulares**. Educa Mais Brasil. 2018. Acesso em fevereiro de 2024, disponível em <<https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/biologia/mitose>>

CAMPOS, D. C. *et al.* **Stripping de amônia de lixiviado de aterro sanitário em reatores de fluxo pistonado**. TECNO-LÓGICA, v. 14, n. 2, 2010, p. 52-60.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes**. Chemosphere, v. 72, p. 722–725, 2008.

CARVALHO, B; PEREIRA, C; PEREIRA, A; SOUZA, L. **Caminhando para a divisão celular: proposta de jogo para o ensino de meiose e mitose**. Revista Ciências & Ideais. v. 11, n. 3. P. 12-25. 2020. <http://doi.org/10.22047/2176-1477/2020.v11i2.1232>.

CARVALHO, L; BRITTO, F; MARIN-MORALES, M; MAFFEI, E. **Análises citológicas do inseticida Deltametrina usando o Teste de Micronúcleo**. Revista da Biologia. vol. 17(1), p. 1-5. 2017.

CASTILHOS JÚNIOR, A.; ZANTA, V.; LANGE, L.; GOMES, L.; PESSIN, N. **Resíduos Sólidos Urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte**. Programa de Pós-Graduação em Saneamento Básico. Universidade Federal de Santa Catarina. Universidade Federal de Minas Gerais. Universidade do Vale do Rio dos Sinos. Universidade de Caxias do Sul. Florianópolis, Santa Catarina. 2003.

CASTILHOS JR, A. B.; PESSIN, N.; FERNANDES, F. (2006). **Gerenciamento de Resíduos Sólidos Urbanos com Ênfase na Proteção de Corpos D'água: Prevenção, Geração e Tratamento de Lixiviados de Aterros Sanitários**. Prosab – Rede Cooperativa de Pesquisas. Santa Catarina.

CASTILHOS JÚNIOR, A. B.; DALSSASSO, R. L.; ROHERS, F. **Pré-tratamento de lixiviados de aterros sanitários por filtração direta ascendente e coluna de carvão ativado**. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 15, n. 4, p. 385-392, 2010.

CEARÁ. **Resolução COEMA nº 02, de 02 de fevereiro de 2017**. Dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras, revoga as Portarias SEMACE nº 154, de 22 de julho de 2002 e nº 111, de 05 de abril de 2011, e altera a Portaria SEMACE nº 151, de 25 de novembro de 2002. 2017.

CHANG, A. C.; GRANTO, T. C.; PAGE, A. L. **A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges**. Environmental Quality, v.21, p.521-536, 1992.

CHERNICHARO, C. A. L., **Princípio do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios**, 5 ed, Minas Gerais, Desa/EEUFMG, 1997.

CHRISTENSEN, T; KJELDSSEN, P; BJERG, P; JENSEN, D; CHRISTENSEN, J; BAUN, A; ALBRECHTSEN, H; HERON, G. **Biogeochemistry of landfill leachate plumes**. Applied geochemistry, v. 16, n. 7, p. 659-718, 2001.

CLÉMENT, B.; MERLIN, G. **The contribution of ammonia and alkalinity to landfill leachate toxicity to duckweed.** Science of the Total Environment, v. 170, n. 1-2, p. 71-79, 1995.

COELHO, D; SILVA, K; SILVA, K; SANTOS, W; MESQUITA, F; BATISTA, R. **Caracterização do percolato produzido no aterro sanitário do município de Mossoró/RN.** III Inovagri Internation Meeting. Fortaleza, 2015. <http://dx.doi.org/10.12702/iii.inovagri.2015-a214>.

COELHO, R. S. **Avaliação da toxicidade de fluídos de usinagem através da ecotoxicologia aquática.** 2006. 136 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

COLODETTI, T; SOUZA, I; SARTORI, L; SALLES, R; JORDAIM, R; TOMAZ, M. **Número de ramos ortotrópicos no cafeeiro arábica: teores foliares de macro e micronutrientes.** V Jornada de Iniciação Científica. VI Seminário Científico do Unifacig. n. 6 (2020), seção ciências agrárias, 2021.

COLOMBO, A.; MÓDENES, A.N.; TRIGUEROS, D.E.G.; MEDEIROS, B.L.; MARIN, P.; MONTE BLANCO, S.P.D.; HINTERHOLZ, C.L. **Toxicity evaluation of the landfill leachate after treatment with photo-Fenton, biological and photo-Fenton followed by biological processes.** Environmental Science and Health, Part A. v.54, n.4, p.269-276, 2019. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1544475>.

COMPAINHA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Emergências Químicas. Conceitos básicos de toxicologia.** Toxicidade. 2023. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/aspectos-gerais/toxicologia/conceitos-basicos-de-toxicologia/>> Acesso em: 20 de janeiro de 2023.

CONTRERA, R. **Estudo da tratabilidade de lixiviados de aterros sanitários em sistema de reatores anaeróbio e aeróbio operados em bateladas sequenciais.** Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo. 2008.

COSTA, A. M.; ALFAIA, R. G. S. M.; CAMPOS, J. C. **Landfill leachate treatment in Brazil—An overview.** Journal of environmental management, v. 232, p. 110- 116. 2019.

COSTA, C. R. *et al.* **A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação.** Quim. Nova, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. **Biomonitoramento de mutagênese ambiental.** Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, v. 1, p. 24-26, 2000.

COSTA, V. M.; MONTEIRO, C. A. B.; BATISTA, N. J. C. **Avaliação genotóxica e mutagênica de amostras de efluentes tratados por lagoas de estabilização em Teresina-Piauí.** Revista DAE, v. 66, n. 209, p. 1-14, 2018.

CRUZ, J. V. B.; SANTOS, E. P.; SILVA, N. J.; LIMA, F. L. O.; MARTINELLI, P. P.; VASCONCELLOS NETO, J. R. T. **Influence of heavy metals on cancer accommodation: A literature review.** Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 6, p. e45810615992, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15992>.

CURADO, A. N.; OLIVEIRA, C. C.; COSTA, W. R.; ANHÊ, A. C. B. M.; SENHUK, A. P. M. S. **Urban influence on the water quality of the Uberaba River basin: an ecotoxicological assessment.** Revista Ambiente e Água, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2018.

CURTIS, J; HUGHES, M; MASON, R.P; ELING, T. **Peroxidase-catalyzed oxidation of (bi) sulfite: reaction of free radical metabolites of (bi) sulfite with (±)-7, 8-dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo [a] pyrene.** Carcinogenesis 9, 2015–2021. 1988.

DACANAL, M.; BEAL, L. L. **Tratamento de lixiviado através de filtro anaeróbio associado à membrana de microfiltração.** In: 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Belo Horizonte, MG. 2007.

DASARATHY, S.; MOOKERJEE, R. P.; RACKAYOVA, V.; THRANE, V. R.; VAIRAPPAN, B.; OTT, P.; ROSE, C. F. **Ammonia toxicity: from head to toe?.** Metabolic brain disease, v. 32, n.2, p. 529-538, 2017.

DB MOLECULAR. Cariótipo — Conheça os detalhes sobre o exame que pode identificar diversas anomalias cromossômicas. 2023. Acesso em janeiro de 2024, disponível em <<https://www.dbmolecular.com.br/artigo/cariotipo-conheca-os-detalhes-sobre-o-exame-que-pode-identificar-diversas-anomalias-cromossomicas>>

DEARFIELD, K.L.; CIMINO, M.C.; MCCARROLL, N.E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L.R. **Genotoxicity risk assessment a proposed classification strategy.** Mutation Research, v.521, p.121-135, 2002.

DIAMADOPOULOS, E. **Characterization and treatment of recirculationstabilized leachate.** Water Research, vol.28, pp.2439 – 2445. 1994.

DUARTE, M. N.; NOGUEIRA, M. A. A.; PASCHOAL, C. J. F.; MIRANDA, A. G.; MONSORES, G. L.; COSTA, L. A.; BRAGA, E. S.; BRAGA, B. B.; RODRIGUES, W. C. **Avaliação da qualidade ambiental através do teste da cebola (*Allium cepa*) Exposta diretamente em leito de rios urbanos.** Revista Eletrônica TECCEN. v. 7, n. 1/2, p. 1-10, 2014.

DUSINKA, M; MARIUSSEN, E; RUNDÉN-PRAN, E; HUDECOVA, A; ELJE, E; KAZIMIROVA, A, *et al.* **In Vitro approaches for assessing the genotoxicity of nanomaterials.** In: Zang Q. (eds) Nanotoxicity, Methods in Molecular Biology., V. 1894. Humana Press, New York, NY. 2019.

DÜSMAN, E.; BERTI, A. P.; SOARES, L. C.; VICENTINE, V. E. P.; **Principais Agentes Mutagênicos e Carcinogênicos de Exposição Humana.** Revista de Saúde e Biologia, v. 7, n. 2, p. 66-81, 2012.

DUX, J. P; STALZER, R.F. **Managing Safety in the Chemical Laboratory.** Van Nostrand Reinhold, New York. 1988.

EGITO, L.C.M. *et al.* **Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil.** Genetics and Molecular Biology, v. 30, n.2, p. 435-441, 2007.

EGREJA FILHO, F. B. **Relatório de atividades de consultoria junto à superintendência de limpeza urbana de Belo Horizonte.** Belo Horizonte: CODEPRO, 1996.

EHRIG, H. **Quality and quantity of sanitary landfill leachate.** Waste Management & Research, vol. 1, p. 53 -68. 1983.

EL-FADEL, M; BOU-ZEID, E; CHAHINE, W; ALAYLI, B. **Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste high organic and moisture content.** Waste Management, v. 22, p. 269-282, 2002.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de limnologia.** 2. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FARIA, M. L. C.; COSTA, F. M.; SILVA, F. C.; BOSSO, R. M. V. **Potencial de citotoxicidade e mutagenicidade das águas do rio Jaru, estado de Rondônia, em células de *Allium cepa*.** Revista Gaia Scientia, v. 11, n. 2, p. 1-10, 2017.

FATTA, D; PAPADOPOULOS, A; LOIZIDOU, M. **A study on the landfill leachate and its impact on the groundwater quality of the greater area.** Environ. Geochem. Health v. 21, p. 175–190, 1999. <https://doi.org/10.1023/A:1006613530137>.

FENECH, M. **The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations.** Mutation Research, v. 285, p. 35-44, 1993.

FENECH, M.; MORLEY, A.A. **Measurement of micronuclei in lymphocytes.** Mutation Research, v. 147, p. 29-36, 1985.

FENECH, M. **Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology.** Toxicology, p.411-416, 2002.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. **Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide.** Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 88, p. 252–259, 2007.

FERREIRA, A. **Estudo dos lixiviados das frações do aterro sanitário de São Carlos – SP por meio da caracterização físico-química.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

FILHO, D. **Avaliação temporal do lixiviado da Muribeca.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2013.

FILHO, J; DIAS, N; BATISTA, R; MEDEIROS, J; SANTOS JÚNIOR, J; FERREIRA, A. **Percolado de aterro sanitário no cultivo da mamoneira: alterações químicas em argissolo vermelho-amarelo.** Irriga, Botucatu, v. 22, n. 4, p. 800-820, 2017.

FISKESJÖ, G. **The *Allium test* as a standard in environmental monitoring.** Hereditas, v.102, p.99-112, 1985.

FISKESJÖ, G. **The *Allium test* - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions.** Mutation Research, v. 197, p. 243-260, 1988.

FISKESJÖ, G. **The *Allium test* as a standard in environmental monitoring.** Hereditas. v. 102, p. 99-112. 1993.

FITZKE, B; BLUME, T; WIENANDS, H; CAMBIELLA, A. **Hybrid processes for the treatment of leachate from landfills**. NATO Sci. Peace Secur. Ser. C Environ. Secur. p. 107–126, 2013. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5079-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5079-1_6).

FOO, K; HAMEED, B. **An overview of landfill leachate treatment via activated carbon adsorption process**. J. Hazard. Mater. 171. 54–60. 2009

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G.T.W. **Metal Pollution in the Quatic Environment**. 2 ed. Berlin, Springer Verlag, p. 230-486, 1983.

FRANCO, H; MARTINS, G; MUSSEL, Y; THODE FILHO, S; MARQUES, M. **Ecotoxicidade de lixiviado de aterro sanitário na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa L.*) e pepino (*Cucumis sativus L.*)**. Revista de Estudos Ambientais. V.19, n. 1, p.36-43, jan./jun. 2017.

FRANCO, H.A.; MARQUES, M.R.C.; MARTINS, G.M.O.; MUSSEL, Y.L.; THODE FILHO, S. **Ecotoxicological evaluation of the application of landfill leachate on the germination of cabbage (*Brassica oleracea var. capitata*)**. Educação e Tecnologia Ambiental, v.21, p. 45-57, 2017

FRIKHA, Y; FELLNER, J; ZAIRI, M. **Leachate generation from landfill in a semi-arid climate: A qualitative and quantitative study from Sousse, Tunisia**. Waste Management & Research. 2017. <https://doi.org/10.1177/0734242X17715102>

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). **Mutagenicidade**. 2023. Disponível em: <<https://www.epsjv.fiocruz.br/mutagenicidade>> Acesso em: 20 de janeiro de 2023.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE (FEAM). **Caderno técnico de reabilitação de áreas degradadas por resíduos sólidos urbanos**. 36 p. Belo Horizonte. 2010.

GADANO, A; GURNI, A; LÓPEZ, P; FERRARO, G; CARBALLO, M. 2002. **In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides***. L. J Ethnopharmacol, n. 81, p. 11-16, 2002.

GARCEZ, L. R. **Estudo dos componentes tóxicos em um biorreator de resíduos sólidos urbanos da Cidade de Campina Grande - PB**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, 2009.

GAJSKI, G; OREŠČANIN, V; GARAJ-VRHOVAC, V. **Chemical composition and genotoxicity assessment of sanitary landfill leachate from Rovinj, Croatia**. Ecotoxicology and Environmental Safety. v. 78, p. 253-259, 2012. <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.032>>.

GAMOŃ, F; TOMASZEWSKI, M; ZIEMBIŃSKA-BUCZYŃSKA, A. **Ecotoxicological study of landfill leachate treated in the ANAMMOX process**. Water Qual. Res. J. 54, 230–241. 2019.

GHERSA, C.M.; BENECH-ARNOLD, R.L.; MARTINEZ-GHERSA, M.A. **The role of fluctuating temperatures in germination and establishment of *Sorghum Hapelense*: Regulation of germination at increasing depths**. Functional Ecology, v. 6, p. 460-468, 1992.

GHOSH, P.; THAKUR, I. S.; KAUSHIK, A. **Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review.** *Ecotoxicology and environmental safety*, v.141, p.259-270, 2017.

GOMES, N. **Análise da toxicidade do lixiviado gerado em uma célula do aterro sanitário em Campina Grande – PB.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

GOMES, N. **Tratamento de lixiviado de aterro sanitário utilizando torre de air stripping e adsorção em leito fixo.** Tese (Doutorado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2022.

GOMES, N; ALMEIDA, M; MELO, M; MONTEIRO, V; OLIVEIRA, R. **Influência de parâmetros físico-químicos na composição de constituintes tóxicos em lixiviado de aterro sanitário.** *Revista Matéria*. v. 23, n. 3, 2018.

GONÇALVES, J. **Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de extratos orgânicos e ácido barbático isolado do líquen *Cladonia salzmanni* (Nyl.).** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

GRANT, W.F. **Chromosome aberration assays in *Allium*: a report of the U.S. environmental protection agency Gene-Tox program.** *Mutation Research*, v.99, p. 273–291, 1982.

GRANT, W.F. **The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens,** *Mutation Research*, v. 310, p. 175–185, 1994.

GRANT, W.F. **Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations: a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals.** *Mutation Research* v. 426, p. 107–112, 1999.

HARA, R; MARIN-MORALES, A. **In vitro and in vivo investigation of the genotoxic potential of waters from rivers under the influence of a petroleum refinery (São Paulo State – Brazil).** *Chemosphere.*, v. 147, p. 321-330, 2017.

HAYASHI, M. **Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms.** *Mutation Research*, v. 399, p. 125–133, 1998.

HEDDLE, J.A. *et al.* **The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity: a Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program.** *Mutation Research*, v. 123, p. 61-118, 1983.

HORIE, M; NISHIO, K; ENDOH, S; KATO, H; FUJITA, K; MIYAUCHI, A; NAKAMURA, A; KINUGASA, S; YAMAMOTO, K; NIKI, E. **Chromium (III) oxide nanoparticles induced remarkable oxidative stress and apoptosis on culture cells.** *Environ Toxicol.* 28 (2), 2013.

HOUK, V.S. **The genotoxicity of industrial wastes and effluents: a review.** *Mutation Research*, v. 277, p.91-138, 1992.

HUSET, C; BARLAZ, M; BAROFSKY, D; CAMPO, J. **Quantitative determination of fluorochemicals in municipal landfill leachates**. Chemosphere. v. 82, p. 1380-1386, 2011. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.072>>.

HWANG, C.; YOON, K. **Multiple Attribute Decision Making: Methods and Applications A State-of-the-Art Survey**. Springer-Verlag New York, p. 269, 1981.

ILIES, P.; MAVINIC, D. S. **The effect of decreased ambient temperature on the biological nitrification and desnitrification of a high ammonia landfill leachate**. Water Research, v. 35, p. 2065-2072, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Cidades**. 2010. Disponível em: <<http://ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?lang=&codmun=250400&search=paraiba|campina-grande|infograficos:-dados-geraisdo-municipio>>. Acesso em: fevereiro de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Cidades**. 2022. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/campina-grande/panorama>>. Acesso em: setembro de 2023.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS (IPT). **Manual de Gerenciamento Integrado**. Lixo Municipal: 2. ed. São Paulo. 2000. 29 p.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 364. 2012.

KAYAALP, N; ERSAHIN, M.E; OZGUN, H; KOYUNCU, I; KINACI, C. **A new approach for chemical oxygen demand (COD) measurement at high salinity and low organic matter samples**. Environ. Sci. Pollut. Res. 17 (9), 1547–1552, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0341-z>.

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

KEYIKOGLU, R; KARATAS, O; REZANIA, H; KOBYA, M; VATANPOUR, V; KHATAEE, A. **A review on treatment of membrane concentrates generated from landfill leachate treatment processes**. Separation and Purification Technology. v. 259, 2021. <<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.118182>>.

KHAN ACADEMY. Revisão sobre estrutura e replicação de DNA. 2024. Acesso em fevereiro de 2024, disponível em <<https://pt.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/replication/a/hs-dna-structure-and-replication-review>>

KHERADMAND, S; KARIMI-JASHNI, A; SARTAJ, M. **Treatment of municipal landfill leachate using a combined anaerobic digester and activated sludge system**. Waste Manag. v. 30, p. 1025–1031, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.01.021>.

KIM, D; LEE, D; KELLER, J. **Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by fish**. Bioresources Technology, v. 79, p. 459-468, 2006.

KJELDSSEN, P.; BARLAZ, M.A.; ROOKER, A.P.; BAUN, A.; CHRISTENSEN, T. **Present and long-term composition of MSW landfill leachate: A Review.** Environmental Science and Technology, v. 32, p. 297-336, 2002.

KLAUCK, C. R.; GIACOBBO, A.; ALTENHOFEN, C.G.; SILVA, L.B.; MENEGUZZI, A.; BERNARDES, A.M.; RODRIGUES, M.A.S. **Toxicity elimination of landfill leachate by hybrid processing of advanced oxidation process and absorption.** Environmental Technology & Innovation, v. 8, p. 246 - 255, 2017.

KLAUCK, C.; RODRIGUES, M.; SILVA, L. **Toxicological evaluation of landfill leachate using plant (*Allium cepa*) and fish (*Leporinus obtusidens*) bioassays.** Waste Management & Research. v. 31(11), p. 1148-1153. 2013. <https://doi.org/10.1177/0734242X13502388>.

KLAUCK, C.; RODRIGUES, M.; SILVA, L. **Evaluation of phytotoxicity of municipal landfill leachate before and after biological treatment.** Brazilian Journal of Biology, v. 75, n. 2, p. 57- 62, 2015.

KLEIN, K.; KIVI, A.; DULOVA, N.; ZEKKER, I.; MÖLDER, E.; TENNO, T.; TRAPIDO, M.; TENNO, T. **A pilot study of three-stage biological–chemical treatment of landfill leachate applying continuous ferric sludge reuse in Fenton-like process.** Clean Technologies and Environmental Policy, v.19, n.2, p.541-551, 2017.

KIRSCH-VOLDERS, M.; PLAS, L.; ELHAOUJI, U.; LUKAMOWICZ, H.; GONZALES, G.; VANDE, K. L. DECORDIE, E. **The in vitro MN assay in 2011:origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance.** Archives of Toxicology, v. 85, n. 8, p. 873-99, 2011.

KOHATSU, A. G.; SHIMABUKURO, F. **Utilização dos testes de mutagenicidade para a avaliação de exposição ocupacional.** Saúde, Ética & Justiça, v. 12, n.1/2, p. 15-21, 2007.

KUMARI, M.; POOJA, G.; TRAKUR, I.S. **Landfill leachate treatment using bactoalgal co-culture: An integrated approach using chemical analyses and toxicological assessment.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 128, p. 44-51. 2016.

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

LANGE, L. C.; AMARAL, M. C. S. **Geração e características do lixiviado.** In: GOMES, L. P (ed), Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras, 1 ed., Cap 2, Rio de Janeiro, ABES, 2009.

LAVRADAS, R. **Determinação de metais (Cu, Fe, Zn, Pb, Cd e Ni) em tecidos de organismos marinhos da Baía de Ilha Grande, RJ, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

LEME, D.M. **Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de águas e sedimentos do rio Guaecá, São Sebastião – SP, após impacto de vazamento de oleoduto da região.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007. 156 f.

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

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. ***Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application.** Mutation Research, v. 682, p. 71–81, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.

LEVAN, A. **The effect of colchicines in root mitosis in *Allium*.** Hereditas, v.24, p.471-486, 1938.

LEVAN, A. **Cytological reactions induced by inorganic salt solutions.** Nature, v.156, p.751-752, 1945.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água.** 4. ed. Campinas: Átomo, 2016.

LIMA, A. **Metais.** Mundo Educação. 2023. Disponível em <<https://mundoeducacao.uol.com.br/quimica/metais.htm>> Acesso em dezembro de 2023.

LISK, D. J. **Environmental effects of landfills.** The Science of the Total Environment, v. 100, p. 415-468, 1991.

LIU, D; JIANG, W; LI, M. **Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*.** Hereditas, 117, 23–29. 1992. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1992.tb00003.x>

LIU, D; ZHAI, L; JIANG, W; WANG, W. **Effects of  $Mg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  and  $Hg^{2+}$  on the nucleus and nucleolus in root tip cells of *Allium cepa*.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 55, 779–787. 1995. <https://doi.org/10.1007/bf00203767>.

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

MACEDA, E; GRISOLIA, A; VAINI, J; CANDIDO, L; *et al.* **Uso de biomarcadores para monitoramento das águas do Córrego Arara no município de Rio Brilhante, MS, Brasil.** Revista Ambiente & Água, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2015.

MACIEL, F. **Estudo da geração, percolação e emissão de gases no aterro de resíduos sólidos da Muribeca – PE.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. **A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos.** Oecologia Brasiliensis, v.12, n.3, p. 355-381, 2008.

MAGOSSI, J. C.; PAVIOTTI, J. R. **Incerteza em entropia.** Revista Brasileira de História da Ciência 12(1), pp. 84-96. 2019.

MAIA, I. S. **Avaliação de lagoas anaeróbias em escala real no tratamento de lixiviados: estudo de caso.** Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2015.

MANAHAM, S. E. **Toxicological Chemistry.** 2. ed. New York: Lewis Publisher, p. 249-251, 1992.

MALER, C. L. **Aplicação de processo de fenton a diferentes etapas do tratamento de lixiviado de aterro sanitário.** 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Centro de Tecnologia e Urbanismo, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

MALLICK, S; PATEL, H; GAWANDE, S; WADEE, A; CHEN, H; MCKENNA, A; BRAZIL, B; YU, W; ZHAO, R. **Using landfill leachate to indicate the chemical and biochemical activities in elevated temperature landfills.** Journal of Environmental Management. v. 351. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119719>.

MALUF S.W.; PASSOS D. F.; BACELAR A.; SPEIT G.; ERDTMANN B. **Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to X-radiation using the micronúcleos test and the comet assay.** Environ Mol Mutagen. v.4, n. 38, p. 311-315, 2001.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. **Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm.** Nature Reviews Cancer, v. 9, p. 153-166, 2009.

MANGIMBULUDE, J; VAN BREUKELLEN, B; KRAVE, A; VAN STRAALLEN, N; RÖLING, W. **Seasonal dynamics in leachate hydrochemistry and natural attenuation in surface Run-Off water from a tropical landfill.** Waste Management, v. 29, p. 829-838, 2009.

MARIA, M. A. **Caracterização de lixiviados de aterros sanitários e industrial da região metropolitana de Belo Horizonte.** Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 2010.

MARON, D.M; AMES, B.N. **Revised methods for the Salmonella mutagenicity test.** Mutation Research, v.113, p.173-215. 1983.

MARTINS, V. B.; LUZ, R. M.; ADAMATTI, D. F. **Educando e conscientizando crianças a respeito do uso da água potável através de jogos.** Scientia Plena., v. 13, n. 4, 2017.

MATSUMOTO, S.T. *et al.* **Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips.** Genetics and Molecular Biology, v.29, n.1, p. 148-158, 2006.

MELLIS, E. V. **Adsorção e dessorção de Cd, Cu, Ni e Zn, em solo tratado com esgoto.** Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MELO, M. C. **Uma análise de recalques associada à biodegradação no aterro de Resíduos Sólidos da Muribeca.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

MENEGUETTI, D; SILVA, F; ZAN, R; RAMOS, L. **Adaptation of the micronucleus technique in *Allium cepa*, for mutagenicity analysis of the Jamari river valley, western Amazon, Brazil.** Environment Analytic Toxicol. v.2, n.2, 2012.

METCALF, E; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse.** EUA, McGraw-Hill, 4ª ed., 1819p, 2003.

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

MONTEIRO, V. **Análises física, químicas e biológicas no estudo do comportamento do Aterro da Muribeca.** 232 fls. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

MORANDI, J. **Avaliação do potencial mutagênico das águas dos afluentes do rio Boa Vista no município de Ouro Preto do Oeste – RO.** Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho. 2014.

MORAVIA, W. G. **Avaliação do tratamento do lixiviado de aterro sanitário através de processo oxidativo avançado conjugado com sistema de separação por membrana.** Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

MORTELMANS, K., ZEIGER, E. **The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay.** Mutat Res. 455, 29-60. 2000.

MOREIRA, C. **Mitose.** Revista Ciência Elementar. v. 3(3), 2015. <http://doi.org/10.24927/rce2015.170>.

MUKHERJEE, A; TSAI, Y. **Does two-part tariff licensing agreement enhance both welfare and profit?** Journal of Economics, v. 116 (1), 63–76. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00712-014-0421-5>.

NATH, A; DEBNATH, A. **A short review on landfill leachate treatment technologies.** Materials Today: Proceedings, v. 67, n 8, p. 1290-1297, 2022.

NAVEEN, B.P.; MAHAPATRA, D.M.; SITHARAM, T.G.; SIVAPULLAIAH, P.V.; RAMACHANDRA, T.V. **Physico-chemical and biological characterization of urban municipal landfill leachate.** Environmental Pollution, v. 220, parte A, p. 1-12, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.002>.

NASCIMENTO, H. **Avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade de anestésicos em *Oreochromis niloticus*.** Dissertação (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2018.

NASCIMENTO, S. C. **Ecotoxicidade de lixiviado de aterro sanitário utilizando minhocas e sementes como organismos-teste.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2021.

NASCIMENTO, S; SILVA, E; GOMES, N; RIBEIRO, L; MELO, M; MONTEIRO, V. **Variação sazonal de indicadores físico-químicos e fitotoxicológicos em lixiviado de aterro**

**sanitário localizado no semiárido brasileiro.** Engenharia Sanitária e Ambiental, 27(6), 1097-1104, 2022. <https://doi.org/10.1590/S1413-415220210172>.

NASCIMENTO, W. **Sobre algumas características da entropia de Shannon para sistemas atômicos confinados.** Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

NAVES, M. P. C.; MORAIS, C. R.; SILVA, A. C. A.; DANTAS, N. O.; SPANÓ, M. A.; REZENDE, A. Z. A. **Assessment of mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of titanium dioxide nanocrystals in somatic cells of *Drosophila melanogaster*.** Food and Chemical Toxicology, v. 112, p. 273-281, 2018.

NIELSEN, M. H.; RANK, J. **Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test.** Hereditas, v. 121, p. 249-254, 1994.

OLIVEIRA, E. C.; NOGUCHI, H.S.; GUEDES, S. D. A.; CALLEJAS, J.G. C.; SANTOS, A.A.; ALMEIDA, E. A.; SILVA, W.T.P. **Caracterização físico-química de lixiviado produzido em um aterro em escala experimental.** In: XIV ENEEAmb, II Fórum Latino de Engenharia e Sustentabilidade, e I SBEA, Brasília, DF, 2016.

OLIVEIRA, M. **Tratamento de lixiviados de aterro sanitário combinando coagulação (sulfato de alumínio) e técnicas eletroquímicas (diamante dopado com boro).** Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de Goiás, Catalão, 2019.

OLIVEIRA, N; ALMEIDA, M; MELO, M; MONTEIRO, V; OLIVEIRA, R. **Influência de parâmetros físico-químicos na composição de constituintes tóxicos em lixiviado de aterro sanitário.** Revista Matéria. v. 23, n. 03, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-707620180003.0489>

OLIVEIRA, T; SOUSA, M; LUSTOSA, E. SOUSA, J; OLIVEIRA FILHO, A; ANJOS, R; NÓBREGA, F. **Toxicidade e genotoxicidade de medicamentos utilizados na pandemia da Covid-19 através do bioensaio *Allium cepa*.** Research, Society and Development. v. 11, n. 13. 2022. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i13.33940>

OLOLADE, O; MAVIMBELA, S; OKE, S; MAKHADI, R. **Impact of Leachate from Northern Landfill Site in Bloemfontein on Water and Soil Quality: Implications for Water and Food Security.** Sustainability. v. 11, 4238, 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/su11154238>.

OTTOBONI, M.A. **The dose makes the poison** 2.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 244p.

PAIXÃO, H. **Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade das águas do Igarapé Judia no município de Rio Branco, Acre, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2020

PALSIKOWSKI, P; ROBERTO, M; SOMMAGGIO, L; SOUZA, P; MORALES, A; MARIN-MORALES, M. **Ecotoxicity evaluation of the biodegradable polymers PLA, PBAT and its blends using *Allium cepa* as Test Organism.** Journal of Polymers and the Environment., v. 26, p. 938-945, 2017.

PAREDES, J. **Dessorção de Nitrogênio Amonial de lixiviado de aterro sanitário em reatores de fluxo pistolado.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba. 2012.

PARVAN, L; LEITE, T; FREITAS, T; PEDROSA, P; CALIXTO, J; AGOSTINHO, L. **Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina.** Revista Pan-Amazônica de Saúde, 11, 10. 2020. <https://doi.org/10.5123/S2176-6223202000544>.

PEIXOTO, A.L.C.; SALAZAR, R.F.S.; BARBOZA, J.C.S.; IZÁRIO FILHO, H.J. **Characterization of controlled landfill leachate from the city of Guaratinguetá - SP, Brazil.** Ambiente e Água, v. 13 n. 2, p. 1-16, 2018.

PELLENZ, L; BORBA, F. H; DAROIT, D. J; LASSEN, M. F. M; BARONI, S; ZORZO, C. F; *et al.* **Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment.** Journal of environmental management, v. 264, p. 110473. 2020.

PERES, F; TERRA, S. **Teor de nutrientes em plantas alimentícias não convencionais.** 10° SIEPEX. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. 2021.

PEREIRA, S; ROCHA, E; LUCENA, L; CAHINO, A; BATISTA, M. **Caracterização físico-química do efluente líquido de um aterro sanitário e proposição de sistema de tratamento avançado.** Congresso ABES, FENASAN, 2017.

PERTILI, C. **Avaliação de processos de separação por membranas como alternativas no tratamento de lixiviado de aterro sanitário.** 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

PERON, A. P.; CANESIN, E. A.; CARDOSO, C. M. V. **Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.** Revista brasileira de Biociências, v. 7, n. 2, p. 155-159, 2009.

PESSOA, C. A.; JORDÃO, E. P. **Tratamento de esgoto domésticos.** 3. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995.

PILOT, H. C.; DRAGAN, Y. P. **Chemical carcinogenesis.** In: KLAASEN, C. D. (Ed.). Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons. 5 ed. New York: McGraw Hill, p. 201-267, 1996.

POHLAND, F.G.; HARPER, S.R. **Critical review and summary of leachate and gas production from landfills.** EPA/600/2-86/73. Cincinnati, USA. 1986.

PORTELLA, M. O.; RIBEIRO, J. C. J. Landfills: general and final destination of waste. **Revista Direito Ambiental e sociedade**, v. 4, n. 1, p. 115–134, 2014

PROGRAMA ÁGUA AZUL. **Nitrogênio Amoniacal Total.** 2015. Disponível em: <[http://programaaguaazul.ct.ufrn.br/indicadores/indicadores\\_ambientais/?id=12](http://programaaguaazul.ct.ufrn.br/indicadores/indicadores_ambientais/?id=12)> Acesso em 19/01/2023.

PROLO JÚNIOR, S. **Avaliação genotóxica, mutagênica e citotóxica da água do igarapé São Francisco, Rio Branco, Acre, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2020.

QIAN, Y; HU, P; YONA, N; XU, M; GUO, C; HU, J. **Global landfill leachate characteristics: Occurrences and abundances of environmental contaminants and the microbiome.** Journal of Hazardous Materials. v. 461, 2024. <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132446>>

RAMBO, C. **Avaliação da toxicidade dos sedimentos de reservatórios artificiais utilizando o sistema teste *Allium cepa*.** Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Comunitária da Região de Chapecó (Unochapecó), Chapecó, 2013.

RAMOS, H. H. **Perdas Ligadas à Má Aplicação de Agrotóxicos.** In: anais do simpósio internacional de aplicação de agrotóxicos, Jundiaí. Resumos. Jundiaí: EMBRAPA, n. 2, p. 403-404, 2001.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. **A modified *Allium test* as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures.** Hereditas, v.18, p.49-53, 1993.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. ***Allium cepa* anwise-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate.** Mutation Research, v.390, p.121-127, 1997.

RANK, J.; LOPEZ, L.C.; NIELSEN, M.H.; MORETTON, J. **Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories.** Hereditas, v.136, p.13-18, 2002.

REICHERT, G. A. **Aterro sanitário, projeto, implantação e operação.** Porto Alegre: ABES, 2000.

REIS, J. A. T; MENDONÇA, A. S. F. **Análise técnica dos novos padrões brasileiros para amônia em efluentes e corpos d'água.** Engenharia Sanitária Ambiental, v.14, n.3. p. 353-362. 2009.

RENOU, S.; GIVAUDAN, J.G.; POULAIN, S.; DIRASSOUYAN, F.; MOULIN, P. **Landfill leachate treatment: Review and opportunity.** Journal of Hazardous Materials, 150 (2008) 468–493.

RIBEIRO, L; GOMES, N; ALMEIDA, M; PAIVA, W. **Análise da relação de indicadores físico-químicos do lixiviado gerado em um aterro sanitário no Semiárido Brasileiro.** Agropecuária Científica no Semiárido. v.17, n.1, p. 36-42, 2021. <http://dx.doi.org/10.30969/acsa.v16i4.1309>.

RIBEIRO, L.R.; MARQUES, E.K. **A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana.** In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. (Org.). Mutagênese Ambiental. Canoas: Ulbra, 2003. p.21-27.

RIBEIRO, L; SALVADORI, D; MARQUES, E. **Mutagênese Ambiental.** Editora Ulbra. Canoas: 1ª edição, 2003.

ROSA, E. V. C.; SIMIONATTO, E. L.; SIERRA, M. M. S.; BERTOLI, S. L.; RADETSKI, C. M. **Toxicity-based criteria for the evaluation of textile wastewater treatment efficiency.** Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, v. 20, p. 839-845, 2001.

SAKAR, H; KARATAS, O; CANBOLAT, C; KESKINLER, B; KARAGUNDUZ, A. **Removal of ammonium ions by capacitive deionization and membrane capacitive deionization units.** Desalination and Water Treatment. v. 75, p. 260-267, 2017. <<http://dx.doi.org/10.5004/dwt.2017.20275>>.

SALEM, Y.; HAMOURI, K.; DJEMAA, R.; ALOIS, K. **Evaluation of landfill leachate pollution and treatment.** Desalination, 220, p.108–114, 2008.

SANG, N; LI, G. **Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of vicia faba.** Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen. 560, 159–165. 2004.

SANTOS, N. **Uso de ozônio no tratamento de lixiviado de aterro sanitário.** Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS, 2020.

SANTOS, V. **Mitose.** Brasil Escola. Disponível em <<https://brasilecola.uol.com.br/biologia/mitose.htm>> Acesso em agosto de 2023.

SARGSYANA, A.; SIMONYAN, A.; HOVHANNISYAN, G.; ARAKELYAN, M.; AROUTIOUNIAN, R. **Application of the comet assay, micronucleus test and global DNA methylation analysis in Darevskializards as a sentinel organism for genotoxic monitoring of soil pollution.** Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 835, p. 1-8, 2018.

SASAKI, J; SILVA, L; SOUSA, K; RAMOS FILHO, R; MONTEIRO, V. **Caracterização físico-química do lixiviado gerado no Aterro Sanitário em Campina Grande –PB.** X Congresso Brasileiro de Geotecnia Ambiental (REGEO 2023). IX Congresso Brasileiro de Geossintéticos (Geossintéticos 2023). Salvador – BA. v. 1. p. 411-418, 2023.

SAX, K.; SAX, H.J. **Possible mutagenic hazards of some food additives, beverages and insecticides.** Japanese Journal of Genetics. v. 43, n. 2, p. 89-94, 1968.

SCHMID, W. **The micronuclei test.** Mutat Res, v. 31, p. 1-15, 1975.

SEGATO, L. M.; SILVA, C. L.; **Caracterização do chorume do aterro sanitário de Bauru.** ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2000.

SENGES, G. H. 1969. **Limpeza urbana: métodos e sistemas.** Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Assistência aos Municípios, 1969.

SIDDIQI, S; AL-MAMUN, A; SANA, A; BAAWAIN, M; CHOUDHURY. **Characterization and pollution potential of leachate from urban landfills during dry and wet periods in arid regions.** Water Supply, v. 22, n° 3, 3462. 2022. [doi: 10.2166/ws.2021.392](https://doi.org/10.2166/ws.2021.392)

SILVA, A. S. **Análise do efeito de componentes tóxicos em resíduos sólidos urbanos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

SILVA, A. S. **Avaliação da toxicidade dos resíduos sólidos urbanos da cidade de Campina Grande-PB**. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB.

SILVA, E. **Ecotoxicidade de resíduos sólidos urbanos e de lixiviado gerado em aterro sanitário**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2022.

SILVA, I. M.; TAUKE-TORNISIELO, S. M.; SANTOS, A. A. O.; MALAGUTTI, E. N. **Avaliação da qualidade de água dos pesque-pague localizados na Bacia do Rio Corumbataí, SP (Brasil)**. *Holos Environment*, v. 12, n. 2, p. 179. 2012.

SILVA, J; HEUSER, V; ANDRADE V. **Biomonitoramento Ambiental**. SILVA, J., ERDTMANN, B., HENRIQUES, J. A. P. (Eds.). *Genética toxicológica*. Porto Alegre: Alcance, p. 167–179, 2003.

SILVA, J; ERDTMANN, B; HENRIQUES, J. **Genética toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, p. 422, 2003.

SILVA, L; BEZERRA, A; SOUSA, K; SASAKI, J; MONTEIRO, V. **Influência de parâmetros físico-químicos na fitotoxicidade do lixiviado gerado no aterro sanitário em Campina Grande – PB**. X Congresso Brasileiro de Geotecnia Ambiental. IX Congresso Brasileiro de Geossintéticos. Salvador, Bahia, v. 1. p. 454-461, 2023.

SILVA, M; ALBUQUERQUE, M; CARTAXO, A; CANTO, C; PEARSON, H; LOPES, W; LEITE, V. **Caracterização físico-química do lixiviado do aterro sanitário metropolitano de João Pessoa – PB**. Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental e Sustentabilidade, v. 7. 2019.

SILVA, R. R. P; PIRES, O. R; GRISOLIA, C. K. **Genotoxicity in *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) induced by *Microcystis* spp bloom extract containing microcystins**. *Toxicon*, v. 58, n. 3, p. 259-264, 2011.

SILVEIRA, N; AZEVEDO, M. **Avaliação da toxicidade dos compostos e epidemiologia das doenças não transmissíveis associadas aos resíduos sólidos**. ConReSol – Congresso Sul-Americano de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade. Gramados, Rio Grande do Sul. 2021.  
SMAKA-KINCL, V. *et al.* **The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium test* procedure**. *Mutation Research*, v.368, p.171 – 179, 1996.

SOARES, N. **Citotoxicidade**. *Biologia. Bioquímica. InfoEscola*. 2020. Disponível em <<https://www.infoescola.com/bioquimica/citotoxicidade/>> Acesso de Agosto de 2023.

SONG, U. **Forest litter and shrubs act as an understory filter for the survival of *Quercus mongolica* seedlings in Mt. Kwan-ak, South Korea**. *Scientific Reports*. Rep. 9 (1), 2019.

SONG, U; PYO, K; SONG, H; LEE, S; KIM, J. **Environmental toxicity assessment of chromium (III) oxide nanoparticles using a phytotoxic, cytotoxic, and genotoxic approach.** Emerging Contaminants. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2023.100293>

SOUTO, G. D. B., POVINELLI, J. **Características do lixiviado de aterros sanitários no Brasil.** In: 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, pp. 1-7, Belo Horizonte, Set. 2007.

SOUTO, G. **Lixiviado de aterros sanitários brasileiros - estudo de remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“stripping”).** Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, 2009.

SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y.; DEUS, W. B. **Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores.** Acta Biomedica Brasiliensia, v.9, n.3, p.95-106, 2018.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. **Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent.** Mutation Research, Leiden, v. 605, n. 2, p. 87-93, 2006.

SOUZA, T. **Análise da toxicidade e da mutagenicidade de solo de landfarming, provenientes de refinaria de petróleo, antes e depois de processos que visam estimular a biodegradação de hidrocarbonetos.** 245 fls. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2010.

SPEECE, R. E. **Review: environmental requires for anaerobic digestion of biomass.** (Advances in Solar Energy – Na Annual Review Of Research and Development) Environmental Studies Institute, Drexel University – Philadelphia, 69 p., 1981.

SPOSITO, J. C. V.; FRANCISCO, L. F. V.; CRISPIM, B. A.; DANTAS, F. G.; SOUZA, J. P.; VIANA, L. F., *et al.* **Influence of Land Use and Cover on Toxicogenetic Potential of Surface Water from Central-West Brazilian Rivers.** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 76, n. 3, p. 483-495, 2019.

SRIVASTAVA, R; KUMAR, D; GUPTA, S.K. **Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*.** Bioresour. Technol. 96, 1867–1871. 2005.

STEINKELLNER, H; MUN-SIK, K; HELMA, C; ECKER, S; MA, T.H; HORAK, O; KUNDI, M; KNASMÜLLER, S. **Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays.** Environmental and Molecular Mutagenesis, 31, 183–191. 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(1998\)31:2<183::AID-EM11>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(1998)31:2<183::AID-EM11>3.0.CO;2-8).

STURBELLE, R; PINHO, D; RESTANI, R; OLIVEIRA, G; GARCIAS, G; MARTINOROTH, M. **Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micrfonúcleo em linfócitos humanos e binucleados.** Revista Brasileira de Farmacognosia. vol. 20(3), p. 409-415. 2010.

TATSI, A; ZOUBOULIS, A. **A field investigation of the quality and quantity of leachate from a municipal solid waste landfill in a Mediterranean climate (Thessaloniki, Greece).** *Advances in Environmental Research*, 6: 207–219, 2002.

TAVARES, T. M.; CARVALHO, F. M. **Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano.** *Química nova*, v. 15, n. 2, p. 147-154, 1992.

TCHOBANOGLIOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. **Integrated solid waste management: engineering principle and management issues.** McGraw-Hill Science/Engineering/Math, 1993, 978 p.

THOMAS, D. J. L.; TYRREL, S. F.; SMITH, R.; FARROW, S. **Bioassays for the evaluation of landfill leachate toxicity.** *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, vol. 12, pp. 83-105. 2009.

TSARPALI, V.; KAMILARI, M.; DAILIANIS, S. **Seasonal alterations of landfill leachate composition and toxic potency in semi-arid regions.** *J. Haz. Mater.*, v. 233/234, p. 163-171, 2012.

URRY, LISA A., CAIN, MICHAEL L., WASSERMAN, STEVEN A., MINORSKY, PETER V., ORR, REBECCA B. **Biologia de Campbell.** 12ª edição. Editora Artmed, Pearson, USA, 2022.

UYGUR, A; KARGI, F. **Biological nutrient removal from pre-treated landfill leachate in a sequencing batch reactor.** *Journal of Environmental Management*. Vv. 71, p. 9-14, 2004. <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.01.002>>.

UZUNIAN, A.; BIRNER, E. **Biologia: volume único.** 3a ed. São Paulo: Harbra, 2008.

VAHABIAN, M; HASSANZADEH, Y; MAROFI, S. **Assessment of landfill leachate in semi-arid climate and its impact on the groundwater quality case study: Hamedan, Iran.** *Environmental Monitoring and Assessment*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7215-8>.

VALENTE, D.; AMARAL, I. C. C.; CARVALHO, L. V. B.; SANTOS, M. V. C.; CASTRO, S. C.; RODRIGUES, D. R. F. *et al.* **Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina.** *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v. 42, n. 1, p. 1- 21, 2017.

VAN TURNHOUT, A. G.; BRANDSTÄTTER, C.; KLEEREBEZEM, R.; FELLNER, J.; HEIMOVAARA, T.J. **Theoretical analysis of municipal solid waste treatment by leachate recirculation under anaerobic and aerobic conditions.** *Waste Management*, v. 71, p. 246-254, 2018.

VARGAS, V.M.F., MIGLIAVACCA, S.B., MELO, A.C., HORN, R.C, GUIDOBONO, R.R., SÁ FERREIRA, I.C.F. and Pestona, M.H.D. **Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants.** *Mutat. Res.* n.490, p.141 – 158, 2001.

VAVERKOVÁ, M. D.; ZLOCH, J.; ADAMCOVÁ, D.; RADZIEMSKA, M.; VYHNÁNEK, T.; TROJAN, V.; WINKLER, J.; ĐORĐEVIĆ, B.; ELBL, J.; BRTNICKÝ, M. **Landfill Leachate Effects on Germination and Seedling Growth of Hemp Cultivars (*Cannabis Sativa L.*)**. Waste and Biomass Valorization, v. 10, n. 2, p. 369-376, 2019.

VAVERKOVÁ, M. D; ELBL, J; KODA, E; ADAMCOVÁ, D; BILGIN, A; LUKAS, V; *et al.* **Chemical composition and hazardous effects of leachate from the active municipal solid waste landfill surrounded by farmlands**. Sustainability, v.12, n. 11, p. 4531. 2020.

VON SPERLING, M. **Lodos ativados**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 1997.

VON SPERLING, M. **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. 3 ed. Belo Horizonte: Ed. DESA/UFMG, p. 452, 2005.

WALKER, C.H., HOPKIN, S.P., SIBLY, R.M., PEAKALL, D.B. **Principles of Ecotoxicology**. Taylor & Francis. London. 2001.

WDOWCZYK, A.; SZYMAŃSKA-PULIKOWSKA, A. **Analysis of the possibility of conducting a comprehensive assessment of landfill leachate contamination using physicochemical indicators and toxicity test**. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 221, 2021.

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

YASUHARA, A; SHIRAISHI, H; NISHIKAWA, M; YAMAMOTO, T; UEHIRO, T; NAKASUGI, O; OKUMURA, T; KENMOTSU, K; FUKUI, H; *et al.*... **Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography–mass spectrometry**. Journal of Chromatography A. v. 774, p. 321-332, 1997. <[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00078-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00078-2)>.

XAYPANYA, P; TAKEMURA, J; CHIEMCHAI SRI, C; SEINGHENG, H; TANCHULING, M. **Characterization of landfill leachates and sediments in major cities of Indochina Peninsular countries – heavy metal partitioning in municipal solid waste leachate**. Environments 5, 65, 2018. <https://doi.org/10.3390/environments5060065>.

ZEGZOUTI, Y; AGUELMOUS, A; KHADRA, A; BOUTAFDA, A; FELS, L; HASSANI, L; HADEK, M; HAFIDI, M. **Genotoxicity evaluation of different types of leachate treated with *Aspergillus flavus* using *Vicia faba* micronucleus**. Environmental Technology & Innovation. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100656>.

ZEGZOUTI, Y; BOUTAFDA, A; EZZARIAI, A; EL FELS, L; EL HADEK, M; HASSANI, L. A. I; HAFIDI, M. **Bioremediation of landfill leachate by *Aspergillus flavus* in submerged culture: evaluation of the process efficiency by physicochemical methods and 3D fluorescence spectroscopy**. Journal of environmental management, v.255, p. 109821. 2020.

ZHU, M; ZHANG, M; TANG, M; WANG, J; LIU, L; WANG, Z. **The concentrationdependent physiological damage, oxidative stress, and DNA lesions in *Caenorhabditis elegans* by**

**subacute exposure to landfill leachate.** Chemosphere, v. 339, 139544, 2023.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139544>.

ZUCCONI F; MONACO A; FORTE M; BERTOLDI, M. **Phytotoxins during the stabilization of organic matter.** In: Gasser JKR (ed) Composting of agricultural and other wastes London. Elsevier, Amsterdam, p. 73–85, 1985.

ZUQUETTE, L. V. **Geotecnia Ambiental.** 1<sup>a</sup> ed. Elsevier. Rio de Janeiro, RJ. 2015. 399 p.