

O presente estudo objetivou avaliar a qualidade ambiental da área de influência direta e indireta do aterro controlado desativado de Lages-SC. Analisou-se os níveis de cádmio, chumbo, cromo, cobre e zinco em amostras de solo coletadas acima e abaixo das massas de resíduos sólidos depositados, bem como a toxicidade de metais em amostras de água dos corpos hídricos localizados na referida área por meio da quantificação da atividade das enzimas detoxificadoras catalase (CAT) e glutationa S-transferase (GST) em brânquias e hepatopâncreas de crustáceos de água doce da espécie *Aegla jarai*.

Orientadora: Prof^a Dra. Indianara Fernanda Barcarolli

Coorientador: Prof. Dr. Gilmar Conte

Lages, 2017

ANO
2017



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

VITOR RODOLFO BECEGATO | QUALIDADE AMBIENTAL DA ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA E INDIRETA DO ATERRO
CONTROLADO DESATIVADO DE LAGES-SC

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**QUALIDADE AMBIENTAL DA
ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA E
INDIRETA DO ATERRO
CONTROLADO DESATIVADO DE
LAGES-SC**

VITOR RODOLFO BECEGATO

LAGES, 2017

VITOR RODOLFO BECEGATO

**QUALIDADE AMBIENTAL DA ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA E INDIRETA DO
ATERRO CONTROLADO DESATIVADO DE LAGES-SC**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Ambientais do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Indianara Fernanda Barcarolli

**LAGES, SC
2017**

Becegato, Vitor Rodolfo
Qualidade Ambiental da Área de Influência Direta
e Indireta do Aterro Controlado Desativado de Lages-SC /
Vitor Rodolfo Becegato. - Lages, 2017.
98 p.

Orientadora: Indianara Fernanda Barcarolli
Coorientador: Gilmar Conte
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado
de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Ambientais, Lages, 2017.

1. Qualidade ambiental. 2. Solos. 3. Aterro
controlado. 4. Metais tóxicos. 5. Atividade
enzimática. I. Barcarolli, Indianara Fernanda. II.
Conte, Gilmar., .III. Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Ambientais. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo autor, com auxílio do programa de geração
automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

VITOR RODOLFO BECEGATO

QUALIDADE AMBIENTAL DA ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA E INDIRETA DO ATERRO CONTROLADO DESATIVADO DE LAGES-SC

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Ambientais do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Banca examinadora



Orientadora:

Prof. Dra. Indianara Fernanda Barcarolli
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC



Co-orientador:

Prof. Dr. Gilmar Conte
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC



Membros:

Prof. Dr. João Batista Pereira Cabral
Universidade Federal de Goiás - UFG



Prof. Dr. Alexandre Tadeu Paulino
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Lages, 26/07/2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me ter proporcionado saúde e sabedoria para chegar até aqui.

À minha mãe Olívia, pela educação, amor, carinho e conselhos tanto pessoais quanto profissionais dados durante toda minha vida; estando ao meu lado tanto nos melhores quanto nos piores momentos.

À minha irmã Lara, por sempre procurar me alegrar e animar com seu bom humor, mesmo estando distante.

As integrantes do Laboratório de Biologia e Toxicologia Ambiental (LABTOXICO) Darluci e Flávia, pelo suporte fornecido tanto durante as coletas de crustáceos quanto nos testes toxicológicos e análises.

Às componentes do Laboratório de Avaliação de Impacto Ambiental (LAIA) Adriana, Camila, Fabiane, Jordana e Laís por toda a ajuda nas coletas e no preparo de amostras de solo e água, bem como pelos valiosos conhecimentos compartilhados e pela companhia de todos os dias.

Aos amigos Artur, Camila, Cyntia, Darleila, Flávia, Francielli, Gustavo, Liliane, Luísa, Maurício, Ricardo, Sandy e Tamires pelos momentos de descontração e pela companhia tanto dentro quanto fora dos laboratórios e das salas de aula.

À Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária do Centro de Ciências Agroveterinárias, pela estrutura física e equipamentos disponibilizados.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Indianara Fernanda Barcarolli, por ter fornecido todo o suporte e auxílio possíveis durante o planejamento e a execução do projeto e a confecção da dissertação final, bem como pelo profissionalismo e disposição.

Ao professor Dr. Valter Antonio Becegato pelo auxílio, incentivo e pelas decisões nos momentos necessários.

Ao coorientador, Prof. Dr. Gilmar Conte e ao Prof. Dr. Alexandre Tadeu Paulino pelo auxílio na realização de análises e procedimentos laboratoriais.

Aos professores do PPGCAMB, pelos conhecimentos compartilhados durante o curso.

Finalmente, à CAPES, pelo essencial auxílio financeiro a mim fornecido por estes 2 anos.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a qualidade ambiental da área de influência direta e indireta do aterro controlado desativado do município de Lages-SC. Para tal, conduziu-se a análise dos níveis de metais tóxicos de amostras de solos, coletadas acima e abaixo das massas de resíduos sólidos depositados, bem como a avaliação da toxicidade de metais presentes em amostras de água de córregos que passam pelo local estudado, utilizando crustáceos de água doce. No que tange às análises de solos, coletou-se 4 amostras de uma área anexa ao aterro controlado, com o intuito de determinar sua CTC e textura. Para avaliar as concentrações de metais tóxicos (cádmio, chumbo, cromo, cobre e zinco), coletou-se 46 amostras; 20 superficiais (acima das massas de resíduos) e 26 subsuperficiais (abaixo das massas). Coletou-se também 4 amostras de chorume do local estudado e outras 4 do atual aterro sanitário do município, de modo a comparar a geração de metais em ambos os locais. Verificou-se a contaminação das amostras de solos mediante a comparação das concentrações obtidas com os limites legais e o cálculo do Fator de Contaminação e do Índice de Geoacumulação referentes a cada metal. Os resultados obtidos para as amostras coletadas tanto acima quanto abaixo das massas de resíduos foram considerados baixos ao serem comparados com os valores legalmente preconizados. Seus Fatores de Contaminação expressam baixa contaminação, e seus Índices de Geoacumulação indicam ausência de poluição pelos metais analisados. Isto se deve à textura predominantemente arenosa dos solos dos pontos de coleta, o que pode indicar a percolação de chorume até profundidades maiores, podendo atingir águas subterrâneas, resultando na contaminação destas. A avaliação da toxicidade de metais foi conduzida mediante a realização de 2 testes toxicológicos, no inverno e no verão do mesmo ano, utilizando crustáceos da espécie *Aegla jarai*, objetivando quantificar a atividade das enzimas catalase e glutationa S-transferase nas brânquias e no hepatopâncreas. Os resultados obtidos indicam que os metais influenciam na expressão das enzimas analisadas. A catalase teve maior atividade no hepatopâncreas, enquanto que a glutationa-S-transferase atuou de forma mais significativa nas brânquias. Ambas as enzimas registraram maiores atividades no inverno, se comparadas às observadas no verão. Conclui-se, portanto, que os metais presentes no chorume que adentra os solos e as águas locais possuem, no atual cenário, a capacidade de, não somente causar danos ambientais, mas também à fauna.

Palavras-chave: Qualidade ambiental. Solos. Aterro controlado. Metais tóxicos. Atividade enzimática.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the environmental quality of the area of direct and indirect influence of the deactivated controlled landfill of the municipality of Lages-SC. In order to do so, there was conducted an analysis of the levels of toxic metals in soil samples, collected above and below the cells of waste disposal; as well as an analysis of the toxicity of metals in water samples from creeks that pass through the area, utilizing fresh water crustaceans. Regarding the analysis of soils, 4 samples from a neighbor area were collected, in order to determine its CEC and texture. To determine the levels of toxic metals (cadmium, lead, chromium, copper and zinc), 46 samples were collected; 20 at surface level (above the cells of waste) and 26 at subsurface level (under the cells). There were also collected 4 samples of leachate from the area, as well as another 4 from the current sanitary landfill of the municipality, in order to compare the generation of metals in both places. The contamination of the soil samples was verified by comparing the obtained concentrations with the legally established limits and by calculating the Contamination Factor and Geoaccumulation Index of each metal. The obtained results for the samples collected above and below the cells were considered low, compared to the legally established limits. The Contamination Factors express low contamination, and the Geoaccumulation Indexes indicate the absence of pollution by the analyzed metals. This fact is owed to the predominantly sandy texture of the soils of the sampling points, which may indicate the percolation of leachate to higher depths, reaching underground waters and resulting in their contamination. The evaluation of toxicity of metals was conducted through 2 toxicological tests, performed in the winter and the summer of the same year, utilizing crustaceans of the specie *Aegla jarai*, aiming to quantify the activity of the enzymes catalase and glutathione S-transferase in gills and hepatopancreas. The obtained results that the metals influence in the expression of the analyzed enzymes. Catalase had a more expressive activity in the hepatopancreas, while glutathione S-transferase expressed itself in a more significant manner in the gills. Both enzymes registered higher activities in the winter, if compared to the summer. Hence, it is concluded that toxic metals in the leachate that enters soils and ground waters have, in the actual scenario, the capacity of causing damage the environment and the fauna.

Keywords: Environmental Quality. Soils. Controlled landfill. Toxic metals. Enzymatic Activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização do aterro controlado desativado do município de Lages-SC	24
Figura 2 – Localizações dos pontos de amostragem de solos em relação ao perímetro do aterro controlado	25
Figura 3 – Amostragem de solo.....	26
Figura 4 – Moagem e peneiramento das amostras de solo em laboratório.....	27
Figura 5 - Amostras para extração de alíquota para análise	28
Figura 6 - Adsorção de cátions pela superfície dos coloides de carga negativa (argila e matéria orgânica) e lixiviação de ânions.....	32
Figura 7 - Adsorção de cátions pela superfície dos coloides de carga negativa (argila e matéria orgânica) – CTC saturada por alumínio e lixiviação de metais	32
Figura 8 – Esquematização da remoção de íons superóxido pelo mecanismo de defesa enzimático e não enzimático	50
Figura 9 – Localizações aproximadas das armadilhas instaladas na coleta de inverno	52
Figura 10 - Localizações aproximadas das armadilhas instaladas na coleta de verão	52
Figura 11 - Indivíduos durante a fase de aclimatação em laboratório.....	53
Figura 12 – Localização dos pontos de coleta de água destinada à execução do teste toxicológico (amarelo) e delimitação da área de deposição de resíduos (vermelho).....	54
Figura 13 - Coleta de amostra de água destinada ao teste toxicológico	54
Figura 14 - Teste toxicológico em andamento.	55
Figura 15 - Amostra de hepatopâncreas identificada, antes do processo de homogeneização.56	
Figura 16 - Processo de homogeneização de amostra	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Concentrações de cádmio (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais.....	35
Gráfico 2 – Concentrações de cromo (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais	35
Gráfico 3 – Concentrações de cobre (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais.....	36
Gráfico 4 – Concentrações de níquel (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais	36
Gráfico 5 – Concentrações de chumbo (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais.....	37
Gráfico 6 - Concentrações de cádmio (ppb) nas amostras de solos superficiais.....	41
Gráfico 7 - Concentrações de cromo (ppb) nas amostras de solos superficiais	41
Gráfico 8 - Concentrações de cobre (ppb) nas amostras de solos superficiais.....	42
Gráfico 9 - Concentrações de níquel (ppb) nas amostras de solos superficiais.....	42
Gráfico 10 - Concentrações de chumbo (ppb) nas amostras de solos superficiais.....	43
Gráfico 11 - Atividades médias da enzima CAT registradas durante o inverno	60
Gráfico 12 - Atividades médias da enzima CAT registradas durante o verão	64
Gráfico 13 - Atividades médias da enzima GST registradas durante o inverno.....	69
Gráfico 14 - Atividades médias da enzima GST registradas durante o verão.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de Referência de Qualidade (ppb) para os metais analisados	29
Tabela 2 – Intervalos de FC e suas respectivas interpretações.....	29
Tabela 3 - Classificação de I_{Geo} segundo a acumulação de metais.....	30
Tabela 4 - Valores orientadores (ppb) de substâncias químicas presentes nos solos e em água subterrânea conforme a Resolução CONAMA nº 420/2009	30
Tabela 5 – Características dos solos-referência.....	31
Tabela 6 - Concentrações dos metais (ppb) nas amostras de chorume dos aterros ativo (A), e desativado (L) de Lages-SC.....	33
Tabela 7- Parâmetros estatísticos para os metais (ppb) analisados das amostras de solos subsuperficiais	34
Tabela 8 - Valores de FC para as amostras de solos subsuperficiais	37
Tabela 9 - Valores de I_{Geo} para os metais analisados nos pontos de amostragem subsuperficial.	39
Tabela 10 – Parâmetros estatísticos relativos aos metais (ppb) em amostras de solos superficiais.	40
Tabela 11 - Valores de Fatores de Concentração (FC) para as amostras de solos superficiais.	44
Tabela 12 - Valores de I_{Geo} para os metais analisados nos pontos de amostragem superficial.	44
Tabela 13 - Comparação entre as concentrações médias (ppb) obtidas por tipo de amostra, ao nível de significância de 5% pelo teste t de Student.....	45
Tabela 14 - Coordenadas dos pontos de coleta da água destinada à execução do teste toxicológico	53

Tabela 15 – Concentrações estimadas de prata, cádmio, cobre, ferro, chumbo (ppb) nos pontos de coleta de água	59
Tabela 16 - Estatísticas descritivas relativas à atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno	61
Tabela 17 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	62
Tabela 18 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado. $\text{min}^{-1}.\text{mg de proteína}^{-1}$) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno	62
Tabela 19 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student	63
Tabela 20 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão	65
Tabela 21 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	66
Tabela 22 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão	66
Tabela 23 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	68

Tabela 24 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno.....	69
Tabela 25 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	71
Tabela 26 - Estatísticas descritivas obtidas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno.....	71
Tabela 27 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	72
Tabela 28 - Estatísticas descritivas obtidas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão	74
Tabela 29 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	75
Tabela 30 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão	75
Tabela 31 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste <i>t</i> de Student.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APHA	<i>American Public Health Association</i>
ATP	Trifosfato de Adenosina
CAT	Catalase
CDNB	2,4-Dinitroclorobenzeno
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
GSH	Glutationa
GST	Glutationa S-Transferase
MG	Minas Gerais
MS	Mato Grosso do Sul
MSDS	<i>Material Safety Data Sheet</i>
PR	Paraná
RPPN	Reserva Particular do Patrimônio Natural
SC	Santa Catarina
SP	São Paulo
UTM	Universal Transversa de Mercator

LISTA DE SÍMBOLOS

°	Grau
° C	Grau Celsius
° GL	Grau Gay-Lussac
'	Minuto
%	Por cento
"	Segundo
γGlu-Cis	Gama Glutamil-L-cisteína
µg/L	Micrograma por litro
µL	Microlitro
nº	Número
Al ³⁺	Íon alumínio
As	Arsênio
Ca ⁺⁺	Íon cálcio
Cl ⁻	Cloreto
Cd	Cádmio
Cd ²⁺	Íon cádmio
Cis	Cisteína
cm	Centímetro
Cr	Cromo
Cr ³⁺	Íon cromo (III)
Cr ⁶⁺	Íon cromo (VI)
Cu	Cobre

Cu^{2+}	Íon cobre
Fe	Ferro
g	Gramma
GCL	Glutamato Cisteína Ligase
Glu	Ácido glutâmico
GPx	Glutationa Peroxidase
GR	Glutationa Redutase
GS	Glutationa Sintetase
GSH	Glutationa
GSSG	Glutationa Dissulfeto
GST	Glutationa S-transferase
h	Hora
H^+	Hídrion
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
Hg	Mercúrio
K^+	Íon potássio
kg	Quilograma
L	Litro
m	Metro
m^2	Metro quadrado
m^3	Metro cúbico
Mg^{2+}	Íon magnésio
mg	Milograma
min	Minuto

mL	Mililitro
mm	Milímetro
Mn	Manganês
Na^+	Íon sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
Ni	Níquel
nm	Nanômetro
NO_3^-	Nitrato
O	Oeste
Pb	Chumbo
Pb^{2+}	Íon Chumbo (II)
ppb	Parte por bilhão
ppm	Parte por milhão
S	Sul
SO_4^{2-}	Sulfato
SOD	Peróxido-dismutase
$\mu\text{g/L}$	Micrograma por litro
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	19
2 CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM SOLOS NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA DO ATERRO CONTROLADO DO MUNICÍPIO DE LAGES-SC	20
2.1 RESUMO	20
2.2 ABSTRACT	21
2.3 INTRODUÇÃO.....	21
2.4 OBJETIVOS.....	23
2.4.1 Objetivo geral.....	23
2.4.2 Objetivos específicos.....	23
2.5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.5.1 Caracterização da área de estudo	24
2.5.2 Coleta e preparo de amostras	25
2.5.3 Determinação dos níveis de metais.....	27
2.5.4 Avaliação de contaminação	28
2.5.4.1 Fator de Contaminação (FC).....	28
2.5.4.2 Índice de Geoacumulação (I_{Geo}).....	29
2.5.4.3 Comparação com valores legalmente preconizados.....	30
2.5.5 Análise estatística.....	31
2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
2.6.1 Amostras de solos-referência.....	31
2.6.2 Caracterização do chorume	32
2.6.3 Amostras subsuperficiais	34
2.6.4 Amostras superficiais	39
2.7 CONCLUSÃO.....	46

3 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DA TOXICIDADE DE METAIS EM ÁGUAS CONTAMINADAS UTILIZANDO O CRUSTÁCEO <i>AEGLA JARAI</i>.....	46
3.1 RESUMO	46
3.2 ABSTRACT	47
3.3 INTRODUÇÃO.....	48
3.4 OBJETIVOS	50
3.4.1 Objetivo geral.....	50
3.4.2 Objetivos específicos.....	51
3.5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
3.5.1 Área de coleta de indivíduos.....	51
3.5.2 Coleta dos indivíduos	51
3.5.3 Fase de aclimatação	52
3.5.4 Coleta de água.....	53
3.5.5 Testes toxicológicos.....	55
3.5.6 Preparação para análises	55
3.5.7 Análises	57
3.5.7.1 Catalase	57
3.5.7.2 Glutationa S-transferase.....	58
3.5.7.3 Proteínas.....	59
3.6 RESULTADOS	59
3.6.1 CAT	60
3.6.2 GST	68
3.7 DISCUSSÃO	77
3.8 CONCLUSÃO.....	78
3.9 PERSPECTIVAS FUTURAS	79
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção de lixo tem sido diretamente associada ao estágio de desenvolvimento de um país ou de uma região. O crescimento da renda per capita nas últimas décadas, especialmente em países subdesenvolvidos, gerou um aumento no consumo de bens duráveis e não duráveis. Além do avanço econômico e da melhor qualidade de vida das pessoas, outra consequência importante foi a geração de maiores volumes de resíduos sólidos diversos.

As formas mais comuns para a destinação desses resíduos na maioria dos países são os aterros sanitários ou a incineração. Geralmente as áreas escolhidas para esse tipo de empreendimento apresentam características ambientais que não são adequadas para a implantação destes depósitos, como áreas de recarga de aquífero e divisores de água, solos com características físicas e químicas desfavoráveis, facilitando desta forma a mobilidade dos metais potencialmente tóxicos e dos compostos orgânicos que pode ser propiciada por uma série de fenômenos naturais como a lixiviação, percolação, arrastamento, solução, entre outros (LIMA, 2004).

O uso de aterros sanitários no país como principal forma de tratamento dos resíduos sólidos não é justificada por argumentos técnicos, principalmente pela falta de conhecimento das alternativas tecnológicas disponíveis (BNDES, 2010).

Os principais passivos ambientais associados a um aterro sanitário são a produção de gás metano e o chorume, um líquido de coloração escura, originário da degradação parcial de resíduos orgânicos e que, segundo Baird (2002), possui contaminantes orgânicos e inorgânicos dissolvidos, em suspensão e microbianos. Além do problema de percolação do chorume no meio externo às células de deposição do lixo, existe ainda a questão da idade do aterro sanitário. A idade do aterro está relacionada ao tempo de deposição do lixo no local, ou seja, o período de tempo no qual o lixo depositado está sendo submetido à decomposição e à degradação. Quanto maior a taxa de degradação, maior é o efeito tóxico do chorume e mais difícil é o tratamento dessa substância e das áreas atingidas por ela (DI IACONI et al. 2011).

Faz-se necessário, portanto, um monitoramento contínuo da qualidade ambiental das áreas diretamente afetadas por estes empreendimentos no que tange, principalmente à influência do chorume e seus constituintes potencialmente poluidores na qualidade tanto dos solos destes locais e de seus arredores quanto de águas subterrâneas e, eventualmente, superficiais. Outro aspecto importante a analisar nestes casos, é o possível efeito nocivo que o

aporte de compostos potencialmente poluidores no ambiente pode causar à biota, realizando, por exemplo, a aplicação de testes toxicológicos.

A Ecotoxicologia é uma ciência relativamente nova quando comparada a outras ciências, e foi reconhecida mundialmente a partir dos anos 1960 (RUBINGER, 2009).

Os testes de toxicidade para avaliar os efeitos causados à(s) espécie(s) teste, consistem na exposição dos organismos aquáticos representativos do ambiente a várias concentrações de uma ou mais substâncias, ou a fatores ambientais, durante um determinado período de tempo. (PLAA, 1982).

Segundo Huggett et al. (1992), avaliou-se, por muito tempo, os efeitos dos poluentes sobre o ambiente aquático, levando em conta diversos níveis de organização do ecossistema, mas de forma limitada, uma vez que vários efeitos podiam ocorrer de forma conjunta. Atualmente, o foco está voltado à análise da atuação de marcadores referentes à alguma função específica em um indivíduo de uma determinada espécie, facilitando a identificação dos efeitos que o contato com poluentes podem causar.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo verificar os níveis de metais tóxicos em solos superficiais e subsuperficiais pertencentes ao aterro controlado desativado do município de Lages-SC, bem como a influência da presença destes na atividade de duas enzimas detoxificadoras em macrocrustáceos de água doce.

2 CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM SOLOS NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DIRETA DO ATERRO CONTROLADO DO MUNICÍPIO DE LAGES-SC

2.1 RESUMO

Os resíduos sólidos urbanos possuem em sua composição produtos químicos dos mais variados. A forma de disposição de tais materiais em lixões, aterros controlados e aterros sanitários, tem como consequência o comprometimento da qualidade ambiental das áreas utilizadas. Os lixões e aterros controlados são os mais problemáticos quanto à contaminação dos solos e das águas superficiais e subterrâneas. O percolado (chorume) oriundo da decomposição do lixo, contém em sua composição uma gama de metais. Este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade ambiental de um aterro controlado estudando os solos e o chorume da área de influência direta concernente aos metais: Cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), níquel (Ni) e cobre (Cu).

Analisa-se amostras de solos que recobrem as células das massas de resíduos bem como solos que estão abaixo destas massas e a composição do chorume bruto. Houve diferença estatística entre as concentrações médias de cádmio, chumbo, cromo e níquel dos solos acima e abaixo das células de lixo. A baixa retenção de metais pelas cargas negativas dos solos abaixo das massas de resíduos deve-se à textura arenosa dos solos, bem como à ocupação da capacidade de troca catiônica por alumínio. Consequentemente, ocorre a percolação do chorume ao longo dos perfis dos solos, além de escorrimento superficial.

Palavras-chave: Metais. Chorume. Qualidade ambiental. Solos.

2.2 ABSTRACT

Urban solid waste have various chemical products in their composition. The disposal of such materials in dumping grounds, controlled landfills or sanitary landfills has, consequently, a decrease in the environmental quality of the utilized areas. Dumping grounds and controlled landfills are the most problematic regarding the contamination of ground and underground soils and waters. Leachate from the decomposition of waste also has a wide variety of metals in its composition. This work aimed to evaluate the environmental quality of a controlled landfill studying soils and leachate from its area of direct influence, concerning the following metals: cadmium (Cd), lead (Pb), chromium (Cr), nickel (Ni) and copper (Cu). Samples from soils that cover the cells of waste deposition were analyzed, as well as samples from soils below these cells and the composition of raw leachate. There was a statistical difference between the average levels of cadmium, lead, chromium and nickel from soils above and below the deposition cells. The low retention of metals by the negative charges of the soils below the deposition cells is owed to its sandy texture, as well as by the occupation of its cathion exchange capacity by aluminum. Consequently, there is percolation of leachate along the soil profiles, as well as superficial flowing.

Keywords: Metals. Leachate. Environmental quality. Soils.

2.3 INTRODUÇÃO

Devido ao aumento das taxas de crescimento da população mundial, a geração de resíduos sólidos também aumenta. Segundo Renou et al., (2008) e Baderna et al., (2011), um

indivíduo pode gerar entre 0,5 a 4,5 kg de resíduos sólidos diariamente. Outros fatores também podem influenciar a geração de lixo, como por exemplo, variações climáticas, sazonais, hábitos e costumes da população, entre outros (MORAES, 2014). Atualmente, os resíduos sólidos gerados pela população costumam ser enviados a três diferentes destinos: lixões, aterros controlados e aterros sanitários. Os lixões são locais onde os resíduos são depositados sem nenhum tipo de tratamento, o que representa uma condição favorável à contaminação tanto do solo local quanto de águas subterrâneas por conta da geração de chorume. Segundo Kjeldsen et al. (2002), grande parte dos aterros sanitários são construídos de forma irregular e inadequada, sem nenhum critério de engenharia, como a correta impermeabilização das células onde será depositado o lixo. O chorume pode conter metais potencialmente tóxicos como chumbo, zinco, cádmio, arsênio, cromo, manganês, cobre, dentre outros, e ainda compostos orgânicos variados que estão presentes nos diversos tipos de resíduos que são depositados a céu aberto e cobertos com solos.

Metal pesado é um termo genérico dado a um grupo de elementos da tabela periódica que inclui não somente metais, mas também metaloides (VAREDA et al., 2016). Grupo este que, segundo Duffus (2002), é constituído por metais ou metaloides associados à contaminação, toxicidade potencial ou ecotoxicidade. No meio ambiente, muitas formas de metais pesados costumam ser estáveis, o que significa que estes não se degradam quimicamente ou biologicamente com o tempo (KIRPICHTCHIKOVA et al., 2006).

Os metais pesados podem ser de fonte geogênica ou antropogênica. Processos industriais, mineração e a disposição de resíduos são as atividades mais significativas, com metais sendo liberados para o ar e o solo (ADRIANO, 2001; KABATA-PENDIAS, 2011).

O solo é um constituinte importante do ambiente natural, sendo um recurso essencial à sobrevivência humana (TAO et al., 2017). Constituído de sólidos minerais e orgânicos, componentes gasosos e aquosos em equilíbrio dinâmico, é um sistema aberto (KLEIN & HOEHNE, 2014).

O cádmio é um metal pesado de origem natural amplamente distribuído em baixas concentrações em rochas, solos, águas, plantas e animais. Não possui função biológica essencial; no entanto, em altas concentrações, pode se tornar tóxico à biota do solo, plantas, animais e seres humanos (LOGANATHAN et al., 2012).

O cobre é um dos micronutrientes essenciais para o crescimento de plantas, no entanto, em concentrações elevadas, pode se tornar um metal tóxico (BOGUTA et al., 2016). No solo este metal pode ser encontrado na forma iônica ou complexado em solução, adsorvido a sítios

de troca iônica, adsorvido especificamente, ocluso em óxidos, complexado à matéria orgânica ou nas redes cristalinas de minerais primários e secundários (ADRIANO, 1986).

Segundo Han et al. (2014), a forma hexavalente do cromo, Cr⁺⁶, também bastante encontrada no ambiente, pode ser um agente carcinogênico. Várias doenças e desordens de saúde incluindo vômitos, alergias epiteliais, diarreia, dermatites, sangramentos gastrointestinais, defeitos de nascença, câncer de pulmão, danos cerebrais e morte prematura são associadas à exposição ao Cr⁺⁶ (DAKIKY et al., 2002; IYER & MASTORAKIS, 2010).

De acordo com Büyükpınar et al. (2017), o níquel pode ser essencial para algumas atividades metabólicas e assim como o cromo, este metal pode ocorrer em mais de um estado de oxidação, no entanto, no ambiente apenas a forma bivalente é estável. Os autores ainda ressaltam que ao níquel pode ser tóxico à pele, também podendo sê-lo aos rins, pulmões, fígado e ao trato respiratório superior.

O chumbo é absorvido pelo corpo humano principalmente pelas vias cutânea e respiratória. Sua acumulação no corpo por um longo período de tempo causa anemia, enfraquecimento renal, mau funcionamento do sistema nervoso e fraqueza, podendo inclusive matar (AFRIDI et al., 2006; KAZI et al., 2008).

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Objetivo geral

Verificar o grau de contaminação dos solos da área de influência direta e indireta do aterro controlado desativado do município de Lages-SC.

2.4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a textura dos solos locais e a saturação de sua CTC por alumínio;
- Mensurar os níveis de cádmio, cromo, cobre, níquel e chumbo em amostras de chorume, coletadas no aterro controlado desativado e no atual aterro sanitário do município;
- Quantificar as concentrações destes metais em amostras superficiais e subsuperficiais de solos da área estudada;
- Comparar os valores obtidos com os limites máximos legalmente permitidos;

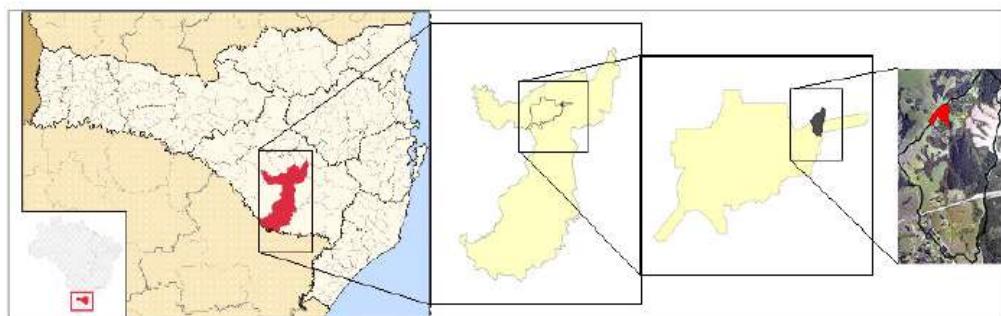
- Determinar os Fatores de Contaminação referentes aos metais analisados, em cada ponto amostrado;
- Determinar os Índices de Geoacumulação de cada metal nas amostras de solo coletadas.

2.5 MATERIAIS E MÉTODOS

2.5.1 Caracterização da área de estudo

O presente trabalho foi desenvolvido com dados obtidos do aterro controlado do município de Lages-SC. A deposição de resíduos sólidos foi iniciada no ano de 1986 e encerrada em 2005. O aterro está localizado na margem esquerda da rodovia BR-282 no sentido Lages/Florianópolis. A área utilizada do lixão é de aproximadamente 48.000 m², cuja localização está compreendida entre as coordenadas geográficas: 27°46'15,38" S e 50°15'10,92" O. O empreendimento está inserido em uma bacia hidrográfica com extensa rede de drenagem, em cujo entorno encontram-se áreas de proteção ambiental e reflorestamentos.

Figura 1 – Localização do aterro controlado desativado do município de Lages-SC.



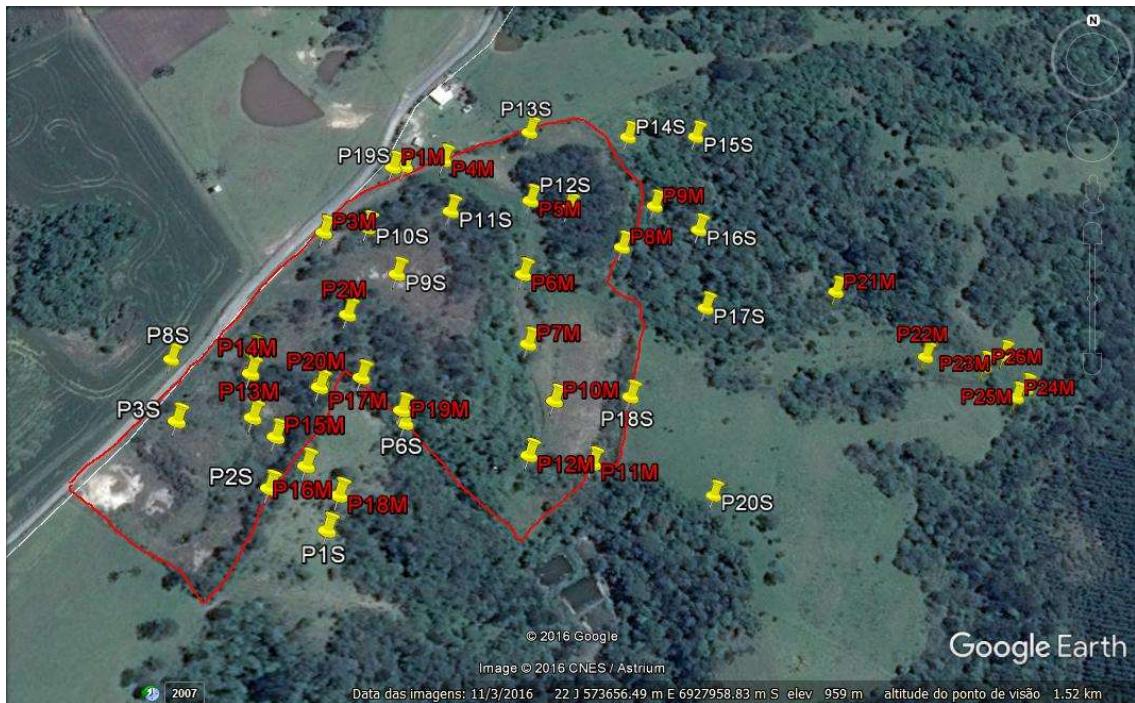
Fonte: MORAES (2014).

Com relação ao contexto geológico, a área de estudos insere-se nos domínios da unidade geotectônica Bacia do Paraná, constituída por sedimentos gondwânicos paleomesozoicos (arenitos), capeados por rochas vulcânicas mesozoicas/juro-cretáceas (ROLDAN et al., 2010). O relevo caracteriza-se por modelados de dissecação homogênea, representado por “coxilhões”, com encostas íngremes e vales relativamente profundos, favorecendo a atuação do escoamento superficial e dos processos erosivos.

2.5.2 Coleta e preparo de amostras

Os pontos de coleta das amostras de solos foram previamente definidos por meio de análise sobre as imagens do *software* Google Earth e de trabalhos em nível de campo em função da possibilidade e facilidade de coleta, tanto para os solos que cobrem as cinco células de resíduos, quanto para os que se encontram abaixo das massas de resíduos. Optou-se por identificar os locais de coleta da seguinte forma: atribuindo-lhes a letra P (ponto), um número e, por último, a letra S (superficial) ou M (massa de resíduos). A Figura 2 mostra as localizações dos pontos coletados.

Figura 2 – Localizações dos pontos de amostragem de solos em relação ao perímetro do aterro controlado.



Fonte: Produção do próprio autor, 2017, com base em Google Earth (2017).

Com o auxílio de um trado, retirou-se amostras de solos na profundidade de 0-20 cm, distribuídas da seguinte forma: 15 amostras que recobrem as cinco células que contém os resíduos sólidos; 5 amostras na região contígua às massas de resíduos; 20 amostras abaixo das massas de resíduos e 6 amostras na rede de drenagem por onde escorrem águas pluviais misturadas com chorume oriundo da decomposição das massas de resíduos, totalizando 46 amostras. Os pontos coletados foram descritos em ficha de coleta, na qual foi anotada a localização dos pontos (obtida com o uso de GPS) e características complementares. Cada

frasco de coleta foi identificado adequadamente com etiqueta autoadesiva. Os solos foram secos em estufa a 60°C por 48 h, sendo posteriormente moídos e peneirados com o auxílio de uma peneira com largura de malha igual a 0,025 mm, conforme a Figura 4.

Objetivando caracterizar o solo representativo da área de influência do aterro, coletou-se 4 amostras em área anexa ao empreendimento sem qualquer influência do aterro ou antrópica, para determinação da CTC e da textura.

Também analisou-se 4 amostras de percolado (chorume), oriundas da área da presente pesquisa, bem como 4 do atual aterro sanitário de Lages-SC, objetivando conhecer as concentrações dos metais objeto da presente pesquisa e que pudessem servir de base para a discussão das concentrações dos elementos nos solos sob influência do aterro desativado.

Figura 3 – Amostragem de solo.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Figura 4 – Moagem e peneiramento das amostras de solo em laboratório.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

2.5.3 Determinação dos níveis de metais

Em relação às 8 amostras de chorume, estas foram pré-acidificadas com a adição de ácido nítrico, até que atingissem pH 2,0. Posteriormente, submeteu-se as amostras a um processo de digestão ácida, seguindo o método 3030E da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (APHA, 1999); procedimento consistido pela adição de 100,0 mL de cada amostra e 5,00 mL de ácido nítrico em frascos do tipo erlenmeyer, aquecidos gradativamente em chapa aquecedora até a redução de seus volumes até 10,0 mL. Uma vez atingido o volume desejado, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e transferidas para balões volumétricos, onde tiveram seu volume completo até 100,0 mL com água milliQ. Por fim, as amostras foram transferidas para frascos âmbar e armazenadas até o momento da análise.

Para as 46 amostras de solos, retirou-se 3 alíquotas de cada uma delas, com massa de 1,0 g, com o intuito de se obter 3 valores (triplicata) dos parâmetros analisados para cada amostra, sendo posteriormente transferidas para frascos tipo erlenmeyer com volume de 125,0 mL e submetidas a um processo de digestão ácida, consistido de uma adaptação do método 3050B da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (APHA, 1999). Adicionou-se 10,0 mL de solução ácido nítrico/ácido perclórico da marca Merck na proporção de 3:1 aos frascos, aquecidos progressivamente até 200,0°C até que o processo de digestão fosse completado. Completou-se o volume com água milliQ até que se atingisse 125,0 ml e transferidas para frascos âmbar para armazenamento.

Figura 5 - Amostras para extração de alíquota para análise.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

As determinações das concentrações dos metais foram analisadas por meio de espectrometria de absorção atômica por chama para amostras de chorume. Já para as amostras de solos, utilizou-se a técnica de espectrometria de absorção atômica por forno de grafite. Para ambas as análises, utilizou-se um equipamento da marca Analytik Jena, modelo contraAA 700.

2.5.4 Avaliação de contaminação

2.5.4.1 Fator de Contaminação (FC)

O Fator de Contaminação (FC), indica o nível de contaminação de um solo pela razão entre a concentração detectada do metal ou composto de interesse no local por um valor de referência, e é representado pela fórmula (JÚNIOR et al., 2008):

$$FC = C_m/C_n \quad (1)$$

Onde:

C_m = Concentração do metal no local;

C_n = Valor de referência do elemento na área da pesquisa.

Devido ao fato de não haver valores de referência dos metais de interesse estabelecidos para a área estudada, foram utilizados os Valores de Referência de Qualidade (VRQ) contidos na Decisão de Diretoria nº 256/2016/E da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2016), expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de Referência de Qualidade (ppb) para os metais analisados.

Metal	VRQ (ppb)
Cd	500
Cr	40000
Cu	35000
Ni	13000
Pb	17000

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017, com base em CETESB (2016).

Na Tabela 2, estão contidos os intervalos de FC, bem como suas devidas interpretações sobre a intensidade da contaminação do solo.

Tabela 2 – Intervalos de FC e suas respectivas interpretações.

Intervalo	Interpretação
$FC < 1$	Baixa contaminação
$1 < FC < 3$	Contaminação moderada
$3 < FC < 6$	Contaminação considerável
$FC > 6$	Contaminação elevada

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017, com base em Hakanson (1980).

2.5.4.2 Índice de Geoacumulação (I_{Geo})

De acordo com Solomons & Förstner (1995), o Índice de Geoacumulação (I_{Geo}) é uma medida qualitativa da poluição causada pelo aporte de metais pesados ao solo. O I_{Geo} é expresso pela equação:

$$I_{Geo} = \log_2[C_m/(1,5C_n)] \quad (2)$$

Onde, segundo Júnior et al. (2008), 1,5 é um fator de correção cuja função é minimizar possíveis variações nos valores de *background* em função da variação da composição do material de origem dos solos. Os diferentes graus de acúmulo de metais estão contidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Classificação de I_{Geo} segundo a acumulação de metais.

Classe I_{Geo}	Intensidade da Poluição	Acúmulo no Sedimento/solo
0	Não poluído	< 0
1	Não poluído a moderadamente poluído	> 0 - 1
2	Moderadamente poluído	> 1 - 2
3	Moderadamente a fortemente poluído	> 2 - 3
4	Fortemente poluído	> 3 - 4
5	Fortemente a exageradamente poluído	> 4 - 5
6	Exageradamente poluído	> 5

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017, com base em Förstner & Müller (1981).

2.5.4.3 Comparação com valores legalmente preconizados

Para critério de comparação, utilizou-se os valores de Prevenção e Intervenção contidos na Resolução CONAMA (BRASIL, 2009) nº 420/2009, expressos na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores orientadores (ppb) de substâncias químicas presentes nos solos e em água subterrânea conforme a Resolução CONAMA nº 420/2009.

Metal	Valor de Prevenção	Valor de Intervenção	Investigação em águas subterrâneas
Cd	1300	3000	5
Cr	75000	150000	50
Pb	72000	180000	10
Ni	30000	70000	20
Cu	60000	200000	2000

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017, com base na Resolução CONAMA nº 420/2009.

2.5.5 Análise estatística

No sentido de verificar se houve diferença nos valores médios entre as concentrações de metais nas amostras superficiais e subsuperficiais, utilizou-se o teste *t* de Student com nível de significância de 5%; bem como estatísticas descritivas; com auxílio do *software* Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.6.1 Amostras de solos-referência

Na Tabela 5 encontram-se os resultados das características físico-químicas das amostras de solos-referência, supostamente sem influência antrópica oriunda da área de influência do aterro controlado. Conforme a análise granulométrica, os solos possuem baixo teor de argila e alta percentagem de areia, com média de 55%. A CTC média obtida foi de 72%, indicando que uma fração significativa de seus sítios de troca estão ocupados por alumínio.

Tabela 5 – Características dos solos-referência.

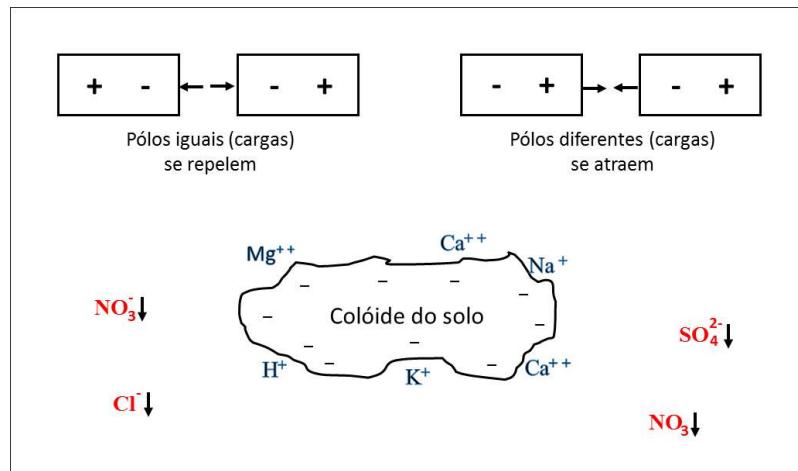
Amostra	Argila (%)	Silte (%)	Areia (%)	Al/Soma de bases	Saturação por Al ⁺³ na CTC (%)
1	35	25	40	6,0/8,1	74
2	23	24	53	4,0/6,4	63
3	13	19	68	5,5/7,5	73
4	16	23	61	5,5/7,5	73
Média	21,7	22,8	55,5	5,3/7,4	72

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Segundo Becegato (2005), solos argilosos, nos quais há a predominância de minerais de argila com grade 2:1 (montmorilonita), contribuem para aumentar a CTC, diferentemente dos de texturas areno-argilosa e arenosa, nos quais predominam respectivamente, caulinita e quartzo, que diminuem a CTC. Altos teores de areia implicam em menor retenção de água e predisposição para lixiviação de cátions. Uma baixa CTC indica que o solo possui pequena capacidade para reter cátions havendo, como consequência, maiores perdas por lixiviação (RONQUIM, 2010). A presença do alumínio na CTC significa que este metal está adsorvido por cargas negativas (INSTITUTO DA POTASSA & FOSFATO, 1998; ZAMBROSI et al.,

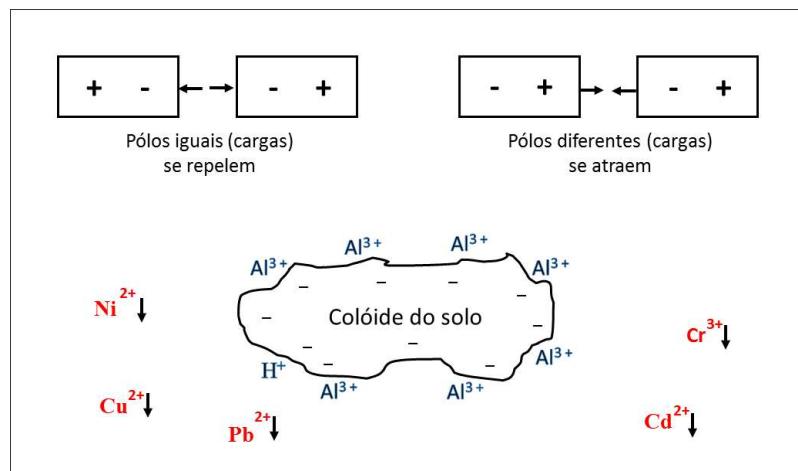
2007), impedindo que outros cátions como cádmio e chumbo possam ficar adsorvidos nestas cargas, conforme pode-se observar nas Figuras 6 e 7.

Figura 6 - Adsorção de cátions pela superfície dos coloides de carga negativa (argila e matéria orgânica) e lixiviação de ânions.



Fonte: Elaborado pelo autor, com base em Instituto da Potassa e Fosfato (1998).

Figura 7 - Adsorção de cátions pela superfície dos coloides de carga negativa (argila e matéria orgânica) – CTC saturada por alumínio e lixiviação de metais.



Fonte: Elaborado pelo autor, com base em Instituto da Potassa e Fosfato (1998).

2.6.2 Caracterização do chorume

Na Tabela 6, observa-se os resultados das amostras de chorume, oriundas dos aterros desativado e do ativo. Como as concentrações foram determinadas em nível de ppm, os elementos cobre, níquel e chumbo permaneceram abaixo do limite de detecção; diferentemente

do observado para cádmio e cromo. Independentemente das amostras, percebeu-se pouca variabilidade entre as concentrações obtidas. Isso pode ser explicado pela origem dos resíduos depositados em ambos os aterros, de mesma fonte, gerando um chorume de composição química muito semelhante; cujas concentrações médias de cádmio e cromo são de, respectivamente, 86 e 1787 ppb.

Oliveira & Pascal (2004) obtiveram 25 ppb de cádmio e 35 ppb de cromo em amostras de chorume bruto no aterro sanitário de Botucatu-SP. Moreira (2008), pesquisando sobre a remoção de metais pesados de resíduos da construção civil, oriundos de percolado bruto, obteve 28 e 46 ppb de cromo e cádmio respectivamente. Sabiá et al. (2015), estudando a contaminação da bacia do rio Salgado, no Ceará, obtiveram concentrações de metais em chorume, como o cádmio, na ordem de 780 ppb e 1036 ppb de cromo. Celere et al. (2007), pesquisando níveis de metais no chorume do aterro de Ribeirão Preto-SP, obtiveram concentrações de 42 ppb de cádmio e 407 ppb de cromo. Riguetti et al. (2015), obtiveram na ordem de 10 ppb de cádmio e 20 ppb de cromo em amostras de chorume do aterro de Dourados-MS. Segundo Nagashima et al. (2009), diversos trabalhos mostram que as concentrações de cádmio e cromo em percolados analisados de diferentes regiões do país variam de 13 a 240 ppb de cádmio e de 73 a 368 ppb de cromo. É patente pelas referências citadas, que as concentrações destes metais no chorume variam de região para região no Brasil, cuja explicação pode ser dada pela composição das massas de resíduos que são depositadas nos aterros, bem como pelo tempo de residência de tais materiais.

Tabela 6 - Concentrações dos metais (ppb) nas amostras de chorume dos aterros ativo (A), e desativado (L) de Lages-SC.

Amostra	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
A1	88,9	1876	<LD	<LD	<LD
A2	83,6	1800	<LD	<LD	<LD
A3	84,3	1751	<LD	<LD	<LD
A4	81,4	1760	<LD	<LD	<LD
L1	84,2	1808	<LD	<LD	<LD
L2	85,2	1761	<LD	<LD	<LD
L3	88,7	1673	<LD	<LD	<LD
L4	91,8	1865	<LD	<LD	<LD

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: <LD = Abaixo do limite de detecção; aferição em ppm.

2.6.3 Amostras subsuperficiais

Cotejando-se os dados da Tabela 7, que representam as amostras de solos que se encontram sob as massas de resíduos e nas áreas de drenagem, os valores máximos detectados para cádmio e cromo foram, respectivamente, de 274 e 1823 ppb. Há uma variabilidade nos teores dos metais, cuja amplitude do Coeficiente de Variação está entre aproximadamente 73% para o níquel até 172% para o cobre.

Tabela 7- Parâmetros estatísticos para os metais (ppb) analisados das amostras de solos subsuperficiais.

Parâmetro estatístico	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
Média	41,415	242,139	852,031	88,626	42,849
Mediana	20,495	141,787	280,100	61,555	36,503
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	51,69	N.E.
Mínimo	0,495	9,220	14,187	13,030	15,442
Máximo	274,300	1823,000	7292,667	261,100	88,090
Desvio padrão	54,808	347,405	1469,846	64,822	20,834
Coef. de variação (%)	132,338	143,743	172,511	73,141	48,622
Assimetria	3,305	4,039	3,695	3,695	0,822
Curtose	13,391	18,476	15,542	15,542	-0,187

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

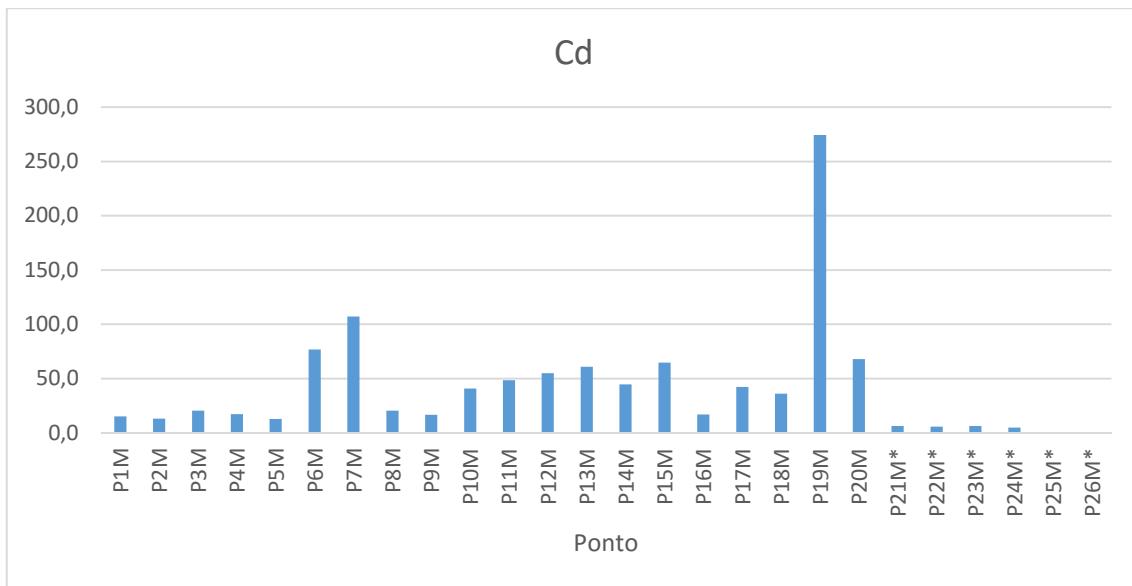
Obs.: N.E. = Não Existente.

Em trabalho análogo realizado a esta pesquisa, Oliveira & Jucá (2004), detectaram concentração média de 5200 ppb de cromo oriundo de amostras de solos localizadas abaixo de uma célula de resíduos sólidos, cuja profundidade amostrada foi de 3 m. Zanello (2006), pesquisando solos contaminados por metais como cromo, níquel e chumbo em área de influência do aterro da Caximba em Curitiba-PR, obteve valores médios de cromo na ordem de 56000 e 48000 ppb para amostras entre as profundidades de 0-20 e 40-60 cm, respectivamente. Marques (2011), obteve teores na ordem de 30 ppb de cromo e 21000 ppb de cádmio em amostras de solos na profundidade de 0-20 cm oriundas de um lixão no município de Elói Mendes-MG. Chaves (2008), esclarece que a mobilidade do cádmio e cromo no perfil do solo, está na dependência da presença e dos teores de óxidos metálicos e de argilas.

As concentrações mais elevadas de alguns metais como cádmio, cromo e cobre, em pontos como o P19 podem ser explicadas pela origem da amostra de solos, oriunda um canal

de drenagem por onde escoam águas pluviais e chorume. O mesmo ocorre com os pontos P25M* e P26M*, que apresentam concentrações mais elevadas de chumbo. As concentrações obtidas de cada metal para os pontos amostrados estão expressas nos Gráficos 1 a 5.

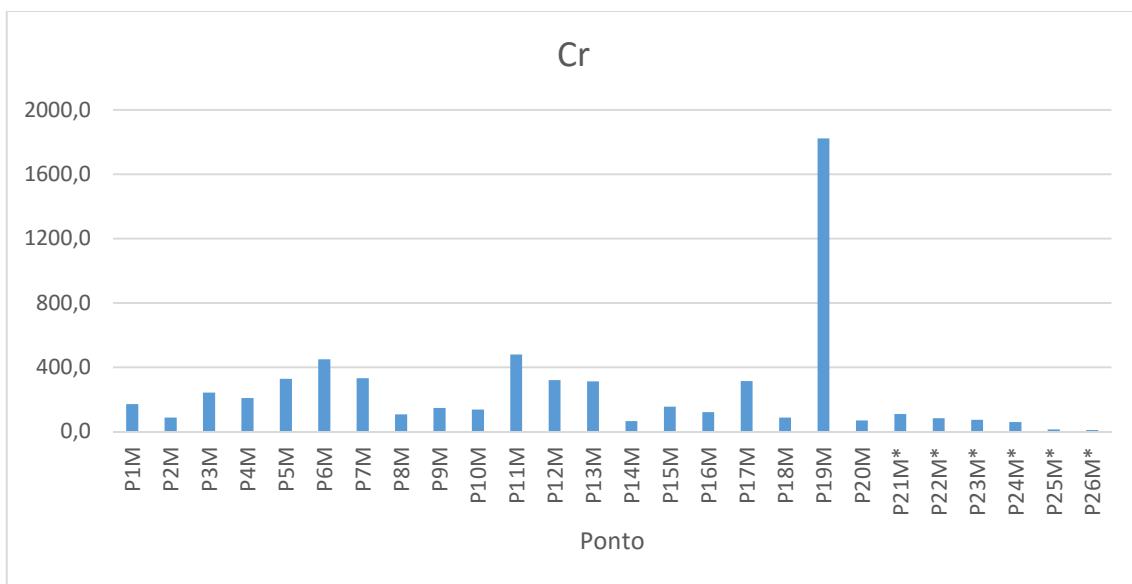
Gráfico 1 – Concentrações de cádmio (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Obs.: Amostras com (*) representam solos coletados na rede de drenagem, sob influência direta da presença de chorume.

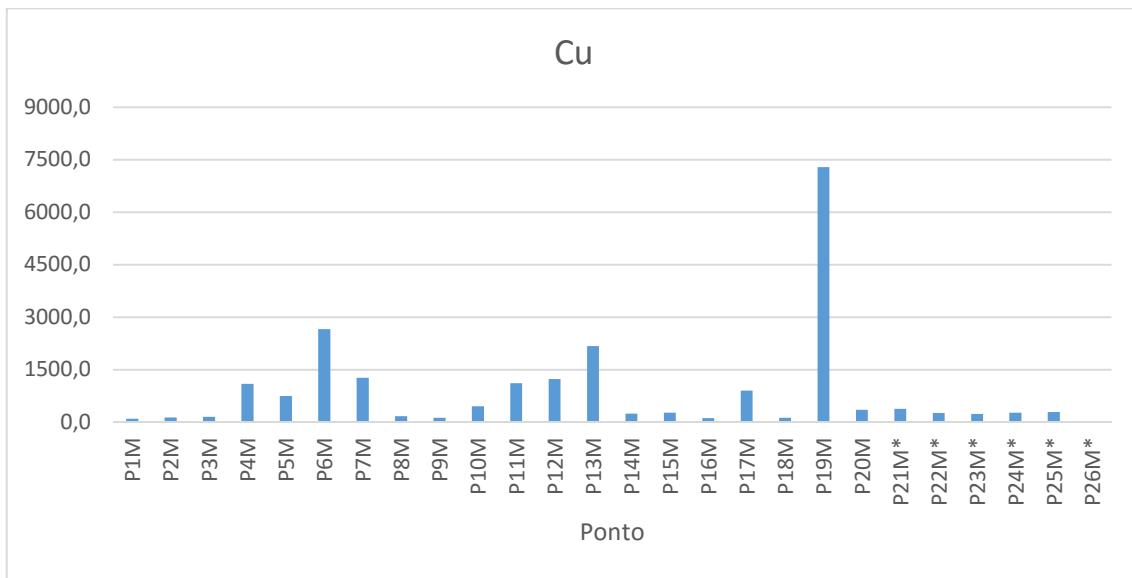
Gráfico 2 – Concentrações de cromo (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Obs.: Amostras com (*) representam solos coletados na rede de drenagem, sob influência direta da presença de chorume.

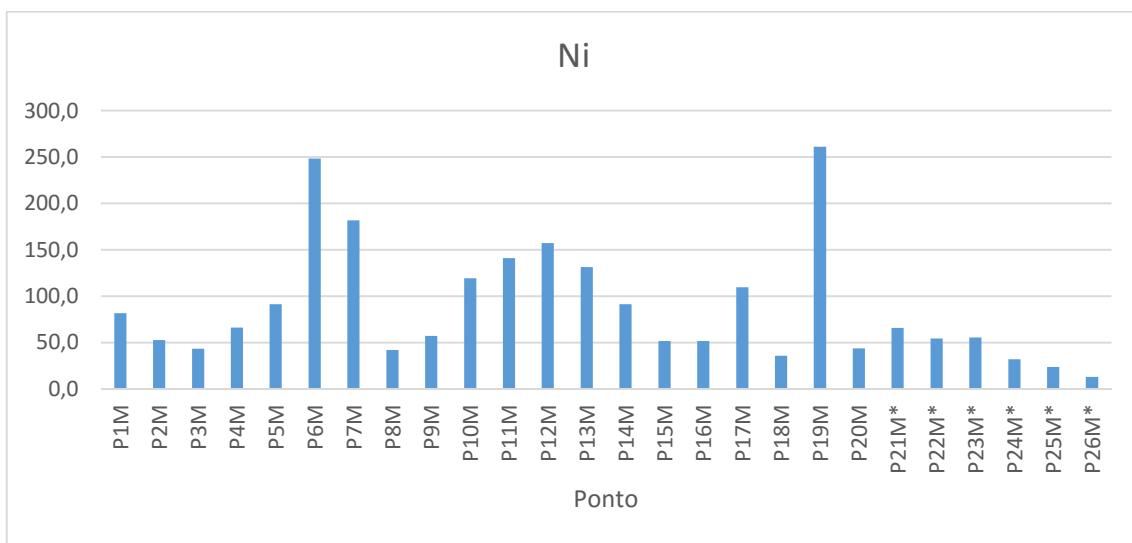
Gráfico 3 – Concentrações de cobre (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Obs.: Amostras com (*) representam solos coletados na rede de drenagem, sob influência direta da presença de chorume.

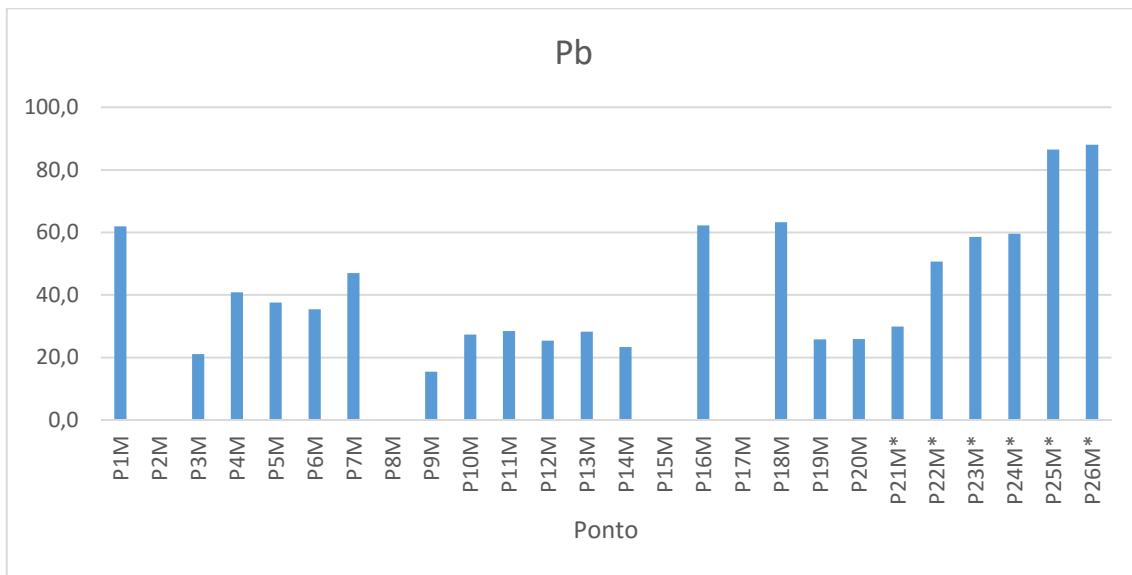
Gráfico 4 – Concentrações de níquel (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Obs.: Amostras com (*) representam solos coletados na rede de drenagem, sob influência direta da presença de chorume.

Gráfico 5 – Concentrações de chumbo (ppb) nas amostras de solos subsuperficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Obs.: Amostras com (*) representam solos coletados nas drenagens sob influência direta da presença de chorume.

Não foram estabelecidas amostras testemunhas para os teores dos metais estudados, face a geologia da área sofrer influência do Domo de Lages, cujos estratos sedimentares estão mesclados pelas formações Botucatu/Piramboia, Teresina e Rio do Rastro, interferindo nas composições texturais compostas de areia, silte e argila; e quiçá nos valores de *background* para os metais pesquisados. Neste sentido, tomou-se como ponto de discussão a composição dos chorumes em termos dos teores de cádmio, cromo, chumbo, níquel e cobre, além de sua dinâmica no perfil do solo.

As concentrações obtidas para os metais analisados encontram-se abaixo dos valores de Prevenção e Intervenção estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 420/2009, em todos os pontos.

Conforme a Tabela 8, os pontos amostrados apresentaram valores de FC inferiores a 1,0 para os metais analisados. Isto representa uma baixa contaminação causada pelos metais.

Tabela 8 - Valores de FC para as amostras de solos subsuperficiais (Continua)

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1M	0,030	0,004	0,003	0,006	0,004
P2M	0,026	0,002	0,004	0,004	ND
P3M	0,041	0,006	0,004	0,003	0,001
P4M	0,034	0,005	0,031	0,005	0,002

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado; * = amostras oriundas dos canais de drenagem de água pluvial e chorume.

Tabela 8 - Valores de FC para as amostras de solos subsuperficiais (Conclusão)

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P5M	0,026	0,008	0,021	0,007	0,002
P6M	0,153	0,011	0,076	0,019	0,002
P7M	0,214	0,008	0,036	0,014	0,003
P8M	0,041	0,003	0,005	0,003	ND
P9M	0,034	0,004	0,004	0,004	0,001
P10M	0,081	0,003	0,013	0,009	0,002
P11M	0,097	0,012	0,032	0,011	0,002
P12M	0,110	0,008	0,035	0,012	0,001
P13M	0,122	0,008	0,032	0,010	0,002
P14M	0,090	0,002	0,062	0,007	0,001
P15M	0,130	0,004	0,007	0,004	ND
P16M	0,034	0,003	0,008	0,004	0,004
P17M	0,085	0,008	0,003	0,008	ND
P18M	0,072	0,002	0,004	0,003	0,004
P19M	0,549	0,046	0,208	0,020	0,002
P20M*	0,136	0,002	0,010	0,003	0,002
P21M*	0,012	0,003	0,011	0,005	0,002
P22M*	0,012	0,002	0,007	0,004	0,003
P23M*	0,013	0,002	0,007	0,004	0,003
P24M*	0,010	0,001	0,008	0,002	0,004
P25M*	0,001	< 0,000	0,008	0,002	0,005
P26M*	0,001	< 0,000	< 0,000	0,001	0,005

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado; * = amostras oriundas dos canais de drenagem de água pluvial e chorume.

No que tange ao I_{Geo} , houve um baixo acúmulo dos metais analisados nos pontos de amostragem, com valores inferiores a 0 em todas as amostras. Com isso, os pontos podem ser enquadrados na Classe 0, e tidos como não poluídos. A Tabela 9 expressa os valores obtidos para as amostras.

Tabela 9 - Valores de I_{Geo} para os metais analisados nos pontos de amostragem subsuperficial

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1M	-5,621	-8,464	-9,069	-7,900	-8,686
P2M	-5,837	-9,436	-8,624	-8,525	ND
P3M	-5,190	-7,957	-8,453	-8,804	-10,238
P4M	-5,446	-8,166	-5,588	-8,202	-9,285
P5M	-5,876	-7,517	-6,136	-7,739	-9,406
P6M	-3,289	-7,064	-4,304	-6,295	-9,491
P7M	-2,808	-7,497	-5,368	-6,744	-9,083
P8M	-5,197	-9,139	-8,241	-8,850	ND
P9M	-5,485	-8,683	-8,697	-8,411	-10,689
P10M	-4,203	-8,768	-6,847	-7,354	-9,865
P11M	-3,949	-6,971	-5,566	-7,112	-9,808
P12M	-3,768	-7,554	-5,413	-6,955	-9,972
P13M	-3,622	-7,591	-4,597	-7,211	-9,819
P14M	-4,067	-9,852	-7,769	-7,736	-10,091
P15M	-3,532	-8,609	-7,625	-8,559	ND
P16M	-5,477	-8,945	-8,823	-8,559	-8,678
P17M	-4,148	-7,574	-5,869	-7,474	ND
P18M	-4,377	-9,417	-8,703	-9,079	-8,656
P19M	-1,451	-5,041	-2,848	-6,223	-9,948
P20M	-3,462	-9,765	-7,234	-8,801	-9,940
P21M*	-6,915	-9,094	-7,098	-8,211	-9,738
P22M*	-7,020	-9,483	-7,673	-8,487	-8,976
P23M*	-6,867	-9,682	-7,801	-8,460	-8,766
P24M*	-7,274	-10,004	-7,588	-9,244	-8,742
P25M*	-10,565	-12,209	-7,514	-9,684	-8,203
P26M*	-10,118	-12,668	-11,854	-10,547	-8,177

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado; * = amostras oriundas dos canais de drenagem de água pluvial e chorume.

2.6.4 Amostras superficiais

Na Tabela 10, os dados estatísticos referem-se aos resultados das amostras das análises dos solos que recobrem as massas de resíduos.

Tabela 10 – Parâmetros estatísticos relativos aos metais (ppb) em amostras de solos superficiais

Parâmetro estatístico	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
Média	3,472	445,069	381,510	433,735	71,990
Mediana	3,845	470,025	283,567	312,042	65,448
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	0,419	36,523	77,195	35,410	23,610
Máximo	5,440	949,050	1212,567	1281,500	152,900
Desvio padrão	1,566	297,366	271,420	324,413	40,486
Coef. de variação (%)	45,121	66,813	71,144	74,795	56,238
Assimetria	-0,676	0,157	1,685	1,308	0,567
Curtose	-0,687	-1,432	3,848	1,203	-0,630

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

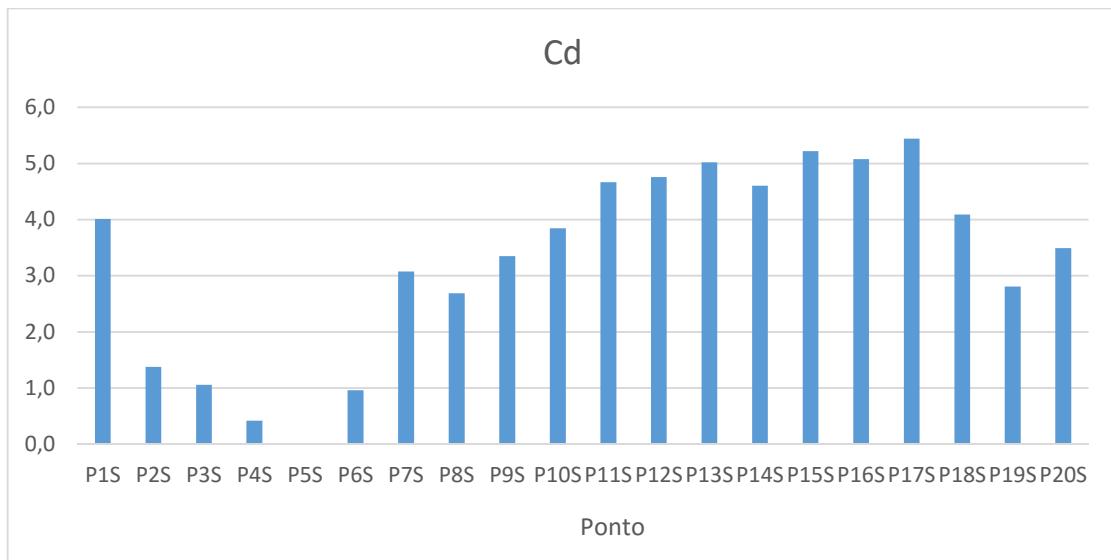
Obs.: N.E. = Não Existente.

Observa-se coeficientes de variação elevados, com destaque para os referentes aos elementos cobre e níquel, que ultrapassaram os 70%. Pode-se inferir que tal variabilidade nas concentrações, que poderiam ser consideradas “valores de *background*”, deve-se à composição geológica que estaria adsorvendo metais nos sítios de trocas das argilas e matéria orgânica que compõe tais extratos.

A discussão sobre a dinâmica de adsorção dos metais nos solos é vasta, oriunda de inúmeras pesquisas realizadas a nível de campo, laboratório e casa de vegetação. Estes trabalhos combinam diferentes tipos de solos, texturas, pH, matéria orgânica, potencial redox, CTC e minerais de argila, cujo contexto pode ser visto como, por exemplo, nos trabalhos de Hamada et al. (2004); Al-Khashman & Shawabkeh (2006); Pierangeli et al. (2007); Sharma et al. (2007); Casali et al. (2008); Melo et al. (2008); Mellis & Rodella (2008); Merlino et al. (2010); Bai et al. (2011); Fonseca et al. (2011); Wang et al. (2015) e Ferreira et al. (2016).

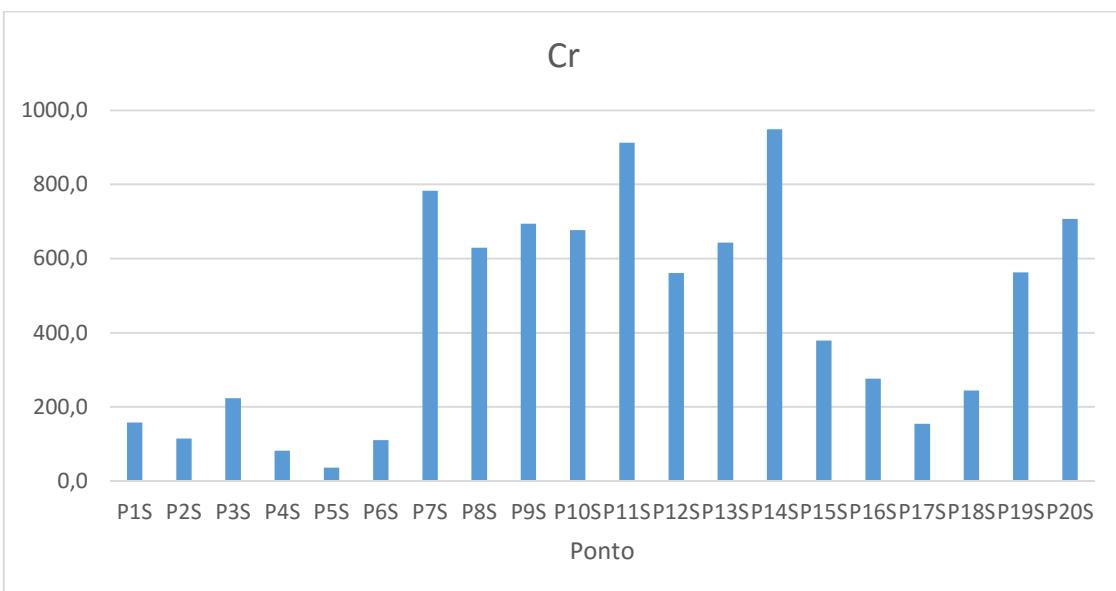
Nos Gráficos 6 a 10, estão contidas as concentrações obtidas para cada metal analisado. Observa-se que as amostras dos pontos P7, P11 e P14 apresentam concentrações de cromo mais elevadas comparativamente aos demais. Com relação ao chumbo, os pontos que se destacam são os P9, P11 e P12. No que se refere ao níquel, se sobressaem os pontos P7, P8, P9, P10 e P11; já o cobre destaca-se nos pontos P1, P11 e P12, dados seus valores elevados.

Gráfico 6 - Concentrações de cádmio (ppb) nas amostras de solos superficiais



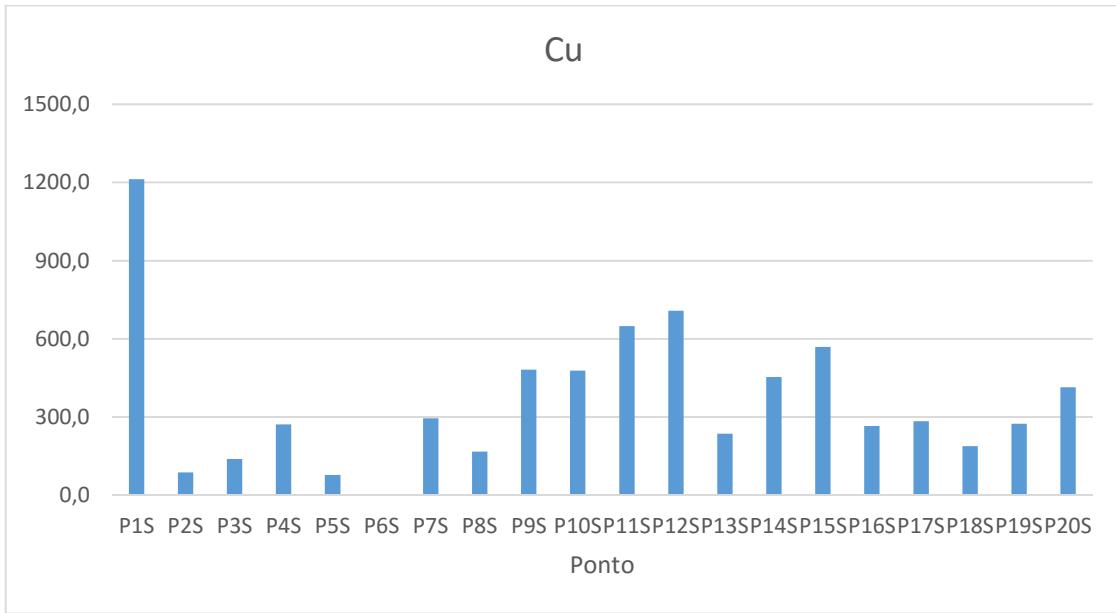
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Gráfico 7 - Concentrações de cromo (ppb) nas amostras de solos superficiais



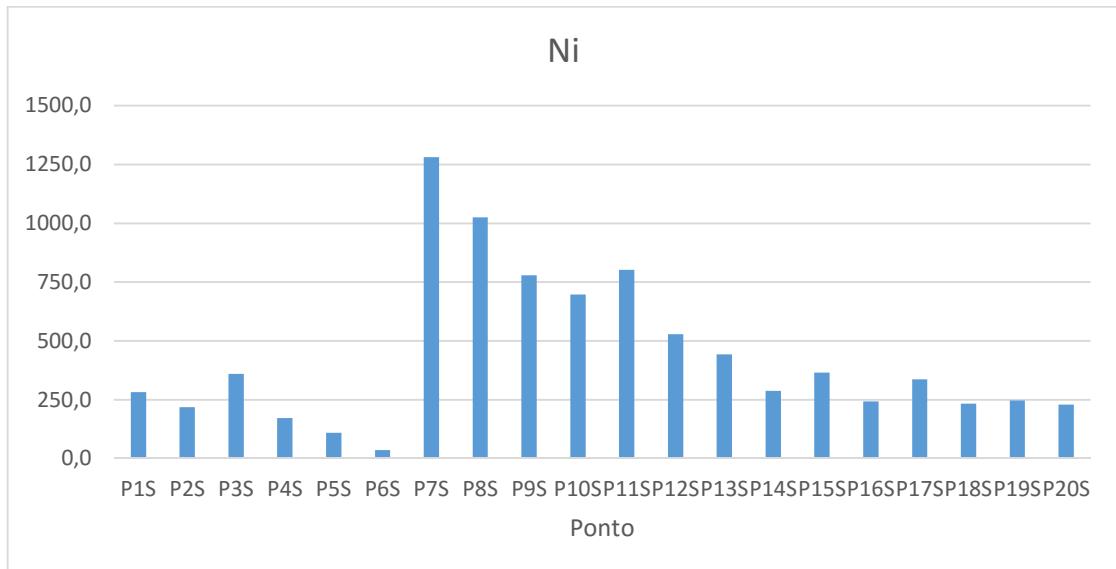
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Gráfico 8 - Concentrações de cobre (ppb) nas amostras de solos superficiais



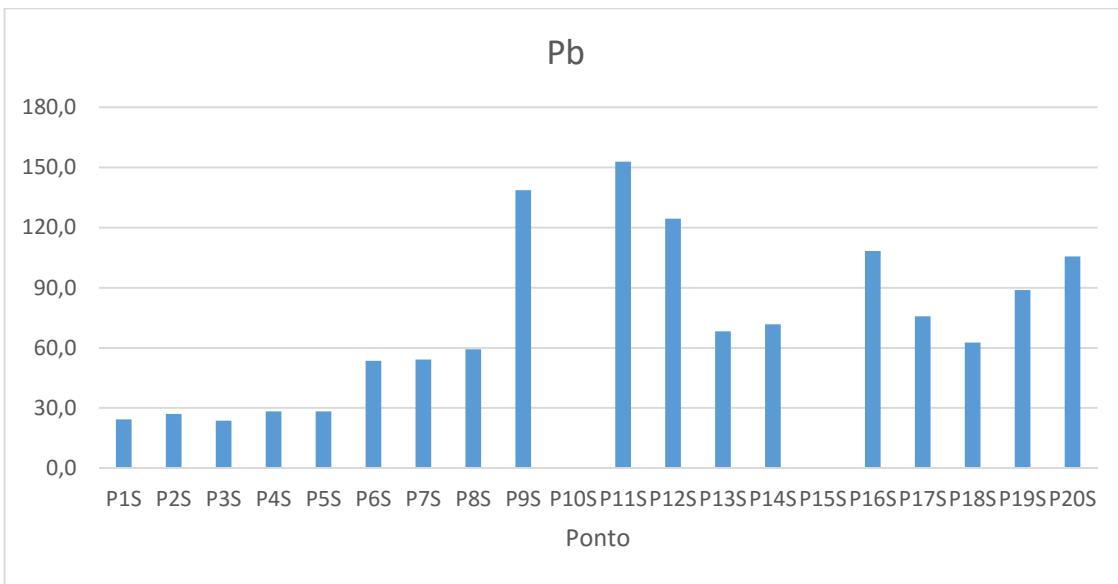
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Gráfico 9 - Concentrações de níquel (ppb) nas amostras de solos superficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Gráfico 10- Concentrações de chumbo (ppb) nas amostras de solos superficiais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Destaca-se a questão geológica no que se refere à mescla dos estratos compostos principalmente pelas Formações Botucatu/Piramboia, Rio do Rastro e Teresina, influenciadas pelo Domo de Lages, cujos sedimentos foram depositados na bacia do Paraná em diferentes períodos. É plausível que as argilas e a matéria orgânica presentes principalmente nas Formações Rio do Rastro e Teresina podem encerar em suas estruturas de troca catiônica a presença dos metais objeto desta discussão.

Enquadramento os resultados das concentrações dos metais em foco no escopo do ordenamento jurídico ambiental balizado pela Resolução CONAMA nº 420/2009 (BRASIL, 2009), todos os valores obtidos estão abaixo dos Valores de Prevenção e de Intervenção para os solos da referida resolução. Por outro lado, o chorume adentra águas superficiais. Além disso, sua percolação pelo perfil do solo local, de textura predominantemente arenosa, demonstra que também pode estar havendo a contaminação de águas subterrâneas.

Conforme a Tabela 11, os pontos amostrados apresentaram valores de FC inferiores a 1,0 para os metais analisados, indicando baixa contaminação referente a estes.

Tabela 11 - Valores de Fatores de Concentração (FC) para as amostras de solos superficiais

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1S	0,008	0,004	0,035	0,022	0,001
P2S	0,003	0,003	0,002	0,017	0,002
P3S	0,002	0,006	0,004	0,028	0,001
P4S	0,001	0,002	0,008	0,013	0,002
P5S	ND	0,001	0,002	0,008	0,002
P6S	0,002	0,003	ND	0,003	0,003
P7S	0,006	0,020	0,008	0,099	0,003
P8S	0,005	0,016	0,005	0,079	0,003
P9S	0,007	0,017	0,014	0,060	0,008
P10S	0,008	0,017	0,014	0,054	ND
P11S	0,009	0,023	0,019	0,062	0,009
P12S	0,010	0,014	0,020	0,041	0,007
P13S	0,010	0,016	0,007	0,034	0,004
P14S	0,009	0,024	0,013	0,022	0,004
P15S	0,010	0,009	0,016	0,028	ND
P16S	0,010	0,007	0,008	0,019	0,006
P17S	0,011	0,004	0,008	0,026	0,004
P18S	0,008	0,006	0,005	0,018	0,004
P19S	0,006	0,014	0,008	0,019	0,005
P20S	0,007	0,018	0,012	0,018	0,006

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado.

No que tange ao I_{Geo} , houve um baixo acúmulo dos metais analisados nos pontos de amostragem, com valores inferiores a 0 em todas as amostras. Com isso, os pontos podem ser enquadrados na Classe 0, e tidos como não poluídos. A Tabela 12 expressa os valores obtidos para as amostras.

Tabela 12 - Valores de I_{Geo} para os metais analisados nos pontos de amostragem superficial (Continua)

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1S	-7,546	-8,567	-5,436	-6,112	-10,033
P2S	-9,092	-9,023	-9,233	-6,486	-9,880
P3S	-9,470	-8,068	-8,562	-5,760	-10,077

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado.

Tabela 12 - Valores de I_{Geo} para os metais analisados nos pontos de amostragem superficial (Conclusão)

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P4S	-10,807	-9,516	-7,598	-6,822	-9,813
P5S	ND	-10,682	-9,410	-7,478	-9,815
P6S	-9,606	-9,079	ND	-9,105	-8,896
P7S	-7,930	-6,259	-7,476	-3,928	-8,879
P8S	-8,124	-6,574	-8,294	-4,249	-8,747
P9S	-7,808	-6,434	-6,767	-4,645	-7,522
P10S	-7,608	-6,469	-6,778	-4,807	ND
P11S	-7,328	-6,039	-6,338	-4,603	-7,382
P12S	-7,300	-6,741	-6,214	-5,204	-7,678
P13S	-7,224	-6,543	-7,796	-5,462	-8,545
P14S	-7,347	-5,982	-6,856	-6,082	-8,474
P15S	-7,167	-7,307	-6,528	-5,741	ND
P16S	-7,206	-7,762	-7,627	-6,329	-7,879
P17S	-7,107	-8,602	-7,532	-5,858	-8,396
P18S	-7,518	-7,939	-8,127	-6,385	-8,669
P19S	-8,061	-6,735	-7,583	-6,302	-8,165
P20S	-7,747	-6,407	-6,988	-6,415	-7,916

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: ND = Não Determinado.

Comparando-se os valores das concentrações dos metais nas amostras de solos superficiais e subsuperficiais, nota-se diferenças estatísticas a 5% de significância em relação aos metais cádmio, cromo, níquel e chumbo, conforme exposto pela Tabela 13.

Tabela 13 - Comparaçao entre as concentrações médias (ppb) obtidas por tipo de amostra, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Tipo de amostra	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
Superficial	3,4717 <i>a</i>	445,0693 <i>c</i>	381,5101 <i>e</i>	433,7348 <i>f</i>	71,9905 <i>h</i>
Subsuperficial	41,4150 <i>b</i>	242,1388 <i>d</i>	852,0312 <i>e</i>	88,6255 <i>g</i>	42,8492 <i>i</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student.

2.7 CONCLUSÃO

As diferenças nas concentrações de cromo e cádmio verificadas no chorume e nas amostras de solos podem estar vinculadas à percolação do chorume nos solos, que ocorre em detrimento de sua condição textural, predominantemente arenosa.

As concentrações dos metais analisados encontram-se abaixo dos valores de Prevenção e de Intervenção para os solos da Resolução CONAMA nº 420/2009, para as amostras coletadas tanto superficialmente quanto em profundidade.

Os baixos valores obtidos de FC e I_{Geo} indicam baixa contaminação por metais nos solos analisados. Entretanto, a alta ocupação da CTC dos solos por alumínio e sua textura arenosa resultam no aporte destes até maiores profundidades, possivelmente atingindo águas subterrâneas.

Há diferença significativa nas concentrações dos metais cádmio, cromo, níquel e chumbo entre as amostras dos solos superficiais e sob as massas de resíduos.

3 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DA TOXICIDADE DE METAIS EM ÁGUAS CONTAMINADAS UTILIZANDO O CRUSTÁCEO *AEGLA JARAI*

3.1 RESUMO

A contaminação do ambiente natural ocorre tanto por processos naturais quanto antrópicos, com as atividades induzidas pelo ser humano possuindo contribuição mais expressiva nos dias atuais. Além do ar atmosférico e dos solos, as águas também são largamente afetadas pelo aporte de compostos potencialmente poluidores, como metais tóxicos, oriundos, principalmente, de efluentes agroindustriais desprovidos de tratamento adequado e da decomposição de resíduos. Tendo em vista a magnitude crescente da contaminação de corpos hídricos, faz-se cada vez mais necessária a utilização de ferramentas eficientes visando um monitoramento contínuo da situação das águas afetadas, bem como analisar possíveis efeitos das alterações na qualidade destas na biota local, em espécies biomarcadoras. Levando esta segunda finalidade em consideração, a análise das atividades de enzimas detoxificadoras em indivíduos de uma espécie é de notável utilidade, uma vez que alterações em seus níveis podem ser um dos indicadores de poluição do meio. Objetivou-se analisar a influência de metais tóxicos na atividade das enzimas detoxificadoras catalase e glutationa S-transferase por meio da realização de testes toxicológicos, em macrocrustáceos de água doce da espécie *Aegla jarai*.

Utilizou-se como meio de exposição 5 amostras de água coletadas em riachos que atravessam áreas de influência direta do aterro controlado do município de Lages-SC, além de uma amostra de referência, coletada em laboratório. Quantificou-se a atividade das enzimas em dois órgãos: brânquias e hepatopâncreas, e comparou-se os resultados obtidos. A catalase registrou maiores atividades nas brânquias. Já a enzima glutationa S-transferase acabou por possuir maior atividade nos hepatopâncreas dos indivíduos.

Palavras-chave: Atividade enzimática. Catalase. Glutationa S-transferase. Metais tóxicos.

3.2 ABSTRACT

The contamination of the natural environment occurs due to natural and anthropic processes, with the activities induced by humans having a more expressive contribution in the current days. As well as atmospheric air and soils, waters are also largely affected by the intake of potentially polluter compounds, such as toxic metals, originated from agroindustrial effluents without proper treatment and the decomposition of waste. Regarding the growing magnitude of the contamination of hydric bodies, it is every time more necessary to use efficient tools to aim for a continuous monitoring of the situation of the affected waters, as well as analyzing possible effects of the alterations in their quality in the local biota, in biomarker species. Taking this second objective into granted, the analysis of the activities of detoxifying enzymes in individuals of a species is notably useful, since alterations in their levels may be one of the indicators of environmental pollution. The present study aimed to analyze the influence of toxic metals in the activity of the detoxifying enzymes catalase and glutathione S-transferase, with the execution of two toxicological tests, performed during the winter and the summer of the same year. Five samples of water, collected in rivers located in areas of direct influence of the deactivated landfill of the city of Lages-SC, as well as a control sample, collected in the laboratory, were utilized as exposition environments. The enzymatic activities were quantified in two organs: gills and hepatopancreas, and the obtained results were then compared. Catalase registered higher levels of activity in the gills, while glutathione S-transferase obtained higher activity in the hepatopancreas.

Keywords: Enzymatic activity. Catalase. Glutathione S-transferase. Toxic Metals.

3.3 INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental por metais é um problema crescente e uma ameaça global aos seres vivos, ocorrendo como resultado de alguns processos naturais, mas de forma mais relevante como resultado de várias atividades antrópicas (NIKOLIC et al., 2016).

Metais tóxicos como cobre e cádmio podem induzir a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células, o que causa modificações oxidativas das principais macromoléculas celulares (CECCONI et al., 2002 apud ZHANG et al., 2012). Os efeitos toxicológicos dos metais tóxicos costumam ser a inibição e desnaturação de enzimas (EKINCI & BEYDEMIR, 2010). Geralmente a inibição de uma enzima por metais se baseia na ligação do metal à proteína (KUCUK & GULCIN, 2016). Metais também podem causar o esgotamento da glutationa. Isso resulta em distúrbios na capacidade antioxidant da célula, levando à ocorrência de EROS (KAYA, SÖYUT & BEYDEMIR, 2013). Dependendo do estado de oxidação, metais podem ser muito reativos e sua toxicidade pode se manifestar de algumas maneiras, como ao tornar enzimas inativas e substituir íons essenciais em biomoléculas (HOSSAIN et al., 2012; TCHOUNWOU et al., 2012). Os sistemas de defesa antioxidant celular exaurem-se após serem expostos a poluentes ambientais, e a quantificação de seus níveis e atividade podem ser utilizados como biomarcadores de efeitos adversos de compostos químicos à saúde de um organismo (VALAVANIDIS et al., 2006).

Muitas informações a respeito dos efeitos biológicos de um poluente (além de sua quantificação) podem ser observadas por meio da utilização dos biomarcadores. Para ser considerado bom, um biomarcador deve ser um indicador sensível de respostas biológicas e pode ser utilizado para obter sinais precoces de risco ambiental além de fornecer informações sobre o estado de saúde de um organismo (DA SILVA, HEUSER & ANDRADE, 2003).

Segundo Zagatto & Bertoletti (2006), deve-se ser considerar os seguintes fatores ao escolher um biomarcador: a facilidade de sua medida, sua resposta em relação à dose ou tempo de exposição ao contaminante, a compreensão e especificação de limites de variabilidade devido a outros fatores como sexo, idade, peso, manuseio e estação do ano, temperatura, salinidade, entre outros, e sua significância biológica, que relaciona o biomarcador aos processos biológicos mais importantes.

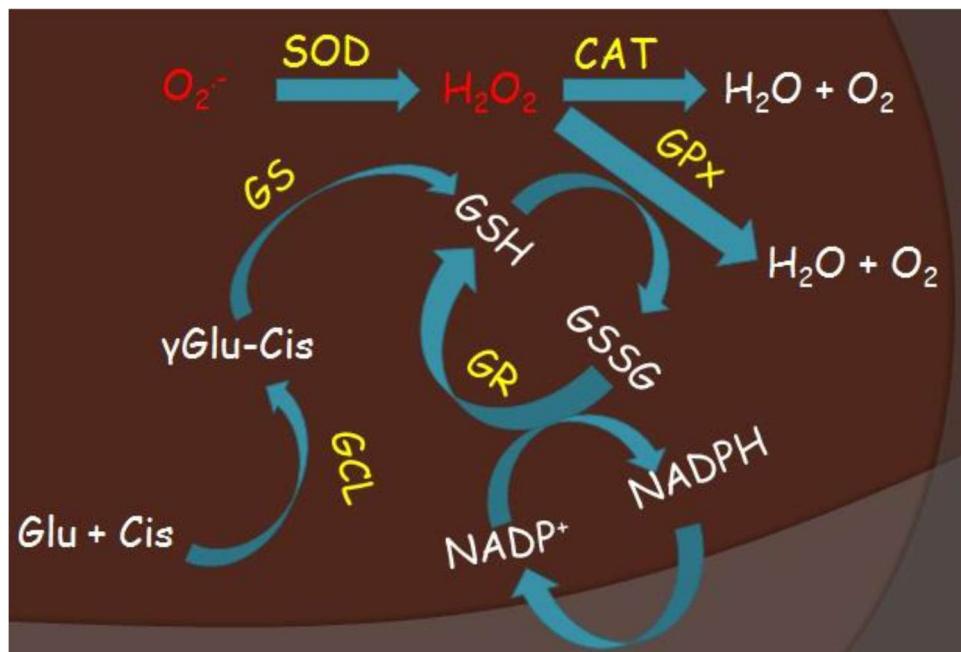
De acordo com Van Der Oost et al., (2003) existem dois tipos de biomarcadores: específicos, que indicam um efeito direto na exposição do organismo a uma substância química e inespecíficos, que indicam qualquer alteração diferente do normal, não podendo correlacioná-la exclusivamente com a exposição a uma determinada substância.

O sistema de detoxificação celular é constituído por 4 fases (ver Figura 8). A fase 0 inclui absorção de xenobióticos por proteínas carreadoras da membrana celular; a fase I denota a bioativação enzimática de compostos precursores por meio de reações de oxirredução; a fase II inclui a conjugação dos metabólitos ou compostos precursores da fase I para grupos funcionais solúveis em água, mediada por enzimas; a fase III se refere ao efluxo de compostos precursores ou metabólitos por proteínas transportadoras (HODGSON, 2010, apud GLISIC, 2015).

Na fase II, a glutationa-S-transferase (GST) é a principal enzima a catalisar a conjugação de eletrófilos com o tiol reativo da glutationa (GSH), facilitando o mecanismo de excreção (BATHIGE et al., 2014). As GSTs são uma família de enzimas presentes em diversos seres vivos, como micróbios, plantas e animais. Diversas GSTs com várias habilidades catalíticas de acomodar múltiplas funções dentro das células costumam estar presentes em eucariotos (EATON & BAMMLER, 1999, apud BATHIGE et al., 2014). Segundo Regoli et al. (1997), Lee et al. (2008) e Won et al. (2011), as GSTs também possuem um papel crucial na mitigação do estresse oxidativo de todas as formas de vida. Suas atividades têm sido amplamente utilizadas como biomarcadores em potencial para fins de monitoramento de poluição ambiental (SHAILAJA & D'SILVA, 2003; CUNHA, MANGAS-RAMIREZ & GUILHERMINO, 2007).

A catalase (CAT), enzima de fase II, é essencial no processo de detoxificação e desempenha um papel importante no mecanismo antioxidante celular. Mudanças na atividade da CAT são indicadoras de lesões celulares após a exposição a produtos químicos, sendo assim, considerada um biomarcador de estresse ambiental na maioria dos casos (GAO et al., 2008). Sua principal função é decompor peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio molecular (KRYCH-MADEJ & GEBICKA, 2017).

Figura 8 – Esquematização da remoção de íons superóxido pelo mecanismo de defesa enzimático e não enzimático



Fonte: REMACLE et al. (1992); SIES (1999); HERMES-LIMA (2004); AZEVEDO (2011).

Os eglídeos são crustáceos anomuros de hábitos bentônicos e de distribuição restrita às regiões temperadas e subtropicais da América do Sul (BUCKUP & BOND-BUCKUP, 1999). A família Aeglidae consiste em um único gênero: *Aegla* Leach, 1820, consistindo de 63 espécies descritas (BOND-BUCKUP et al., 2008). Espécies do gênero *Aegla* são amplamente distribuídas na América do Sul, podendo ser encontradas desde 320 m de profundidade em lagos chilenos, até 4.500 m de altitude na cordilheira dos Andes (BOND-BUCKUP & BUCKUP, 1994; BOND-BUCKUP, 2003). No Brasil, indivíduos da espécie *Aegla jarai* podem ser encontrados nos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul (BOOS JÚNIOR et al., 2006).

3.4 OBJETIVOS

3.4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de metais tóxicos em enzimas do sistema de detoxificação de macrocrustáceos de água doce da espécie *Aegla jarai*.

3.4.2 Objetivos específicos

- Determinar a atividade da catalase (CAT) nas brânquias e hepatopâncreas do crustáceo de água doce *Aegla jarai*;
- Determinar a atividade da glutationa S-transferase (CAT) nas brânquias e hepatopâncreas do crustáceo de água doce *Aegla jarai*;
- Verificar a influência do inverno e do verão nas respostas dos biomarcadores nos diferentes tecidos do crustáceo *Aegla jarai*.

3.5 MATERIAIS E MÉTODOS

3.5.1 Área de coleta de indivíduos

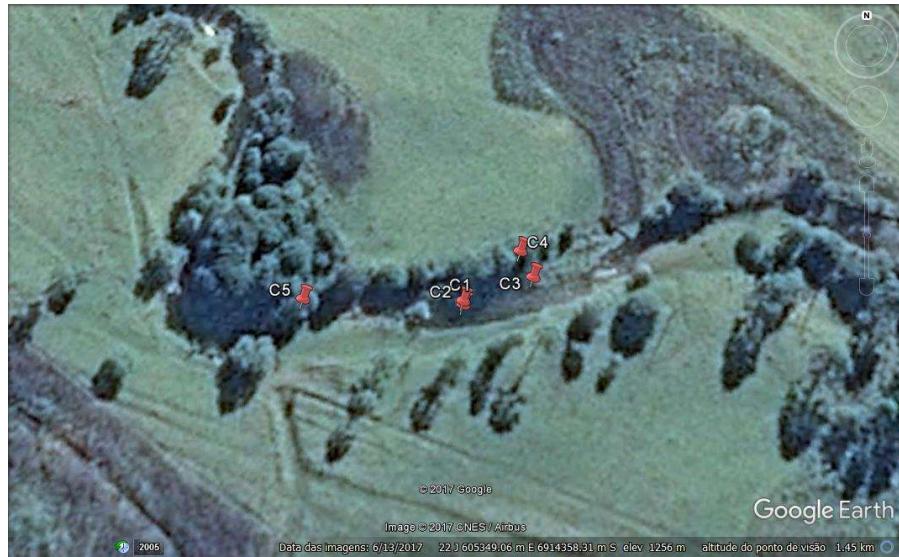
As coletas de crustáceos ocorreram na Reserva Particular do Patrimônio Natural Complexo da Serra da Farofa, que compreende uma área de 4900 ha, e que é frequentemente utilizada para trabalhos de pesquisa e de conservação da Mata Atlântica. Trabalhos realizados na RPPN Complexo Serra da Farofa já identificaram quase 600 espécies de flora e 75 espécies de fauna. (RPPN CATARINENSE, 2016).

Segundo Hübel (2012), a reserva é considerada uma Floresta de Alto Valor de Conservação, pois nela estão sendo preservados atributos tais como a proteção de nascentes e mananciais e a conservação de espécies de plantas e animais ameaçados de extinção.

3.5.2 Coleta dos indivíduos

Para a coleta dos indivíduos, foram dispostas armadilhas em pontos com distâncias similares entre si e que possuíam profundidade suficientemente grande para que fosse possível deixar as armadilhas completamente submersas. Uma vez definidos os pontos (Figuras 9 e 10), adicionou-se isca no interior das armadilhas, que foram posteriormente amarradas com barbante a galhos de árvores e submersas. Após 24 h as armadilhas foram retiradas e os indivíduos foram dispostos em uma caixa plástica contendo água do local de coleta, de modo a evitar a morte precoce destes antes da chegada ao laboratório.

Figura 9 – Localizações aproximadas das armadilhas instaladas na coleta de inverno



Fonte: Produção do próprio autor, 2017, com base em Google Earth (2017).

Figura 10 - Localizações aproximadas das armadilhas instaladas na coleta de verão



Fonte: Produção do próprio autor, 2017, com base em Google Earth (2017).

3.5.3 Fase de aclimatação

Em laboratório, procedeu-se à fase de aclimatação dos indivíduos ao ambiente onde o teste toxicológico seria posteriormente conduzido; sendo que esta fase teve duração total de 96 h (Figura 11). Os crustáceos foram transferidos para caixas plásticas idênticas à utilizada para seu armazenamento em campo, mas que continham água de diluição e aeradores elétricos. Realizou-se a troca do meio 2 vezes ao dia, em intervalos de 12 h, juntamente com a alimentação

(ração comercial para peixes). Ao fim de 24 h, os indivíduos mortos eram removidos do meio e descartados. Decorridas as 96 h de aclimatação, deu-se início ao teste toxicológico.

Figura 11 - Indivíduos durante a fase de aclimatação em laboratório



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

3.5.4 Coleta de água

Para a execução do teste, optou-se por utilizar, como meio, água de 5 diferentes pontos de riachos que passam pelo aterro controlado desativado do município de Lages-SC, definidos após a chegada ao local. Suas coordenadas geográficas estão expressas na Tabela 14, e ilustradas na Figura 12.

Tabela 14 - Coordenadas dos pontos de coleta da água destinada à execução do teste toxicológico

Ponto	Coordenada X (m)	Coordenada Y (m)
P1	574003	6927953
P2	573934	6927957
P3	573939	6927908
P4	573998	6928001
P5	573871	6927987

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Figura 12 – Localização dos pontos de coleta de água destinada à execução do teste toxicológico (amarelo) e delimitação da área de deposição de resíduos (vermelho)



Fonte: Produção do próprio autor, 2017, com base em Google Earth (2017).

Coletou-se, como observado na Figura 13, durante o período de aclimatação dos crustáceos em laboratório, um volume de 5,0 L de água em cada ponto, com o auxílio de garrafas plásticas identificadas com etiquetas adesivas contendo o nome de cada ponto, com o objetivo de garantir um volume de 1,0 L de água para cada dia do teste toxicológico. Efetuada a coleta, os recipientes foram acondicionados em uma caixa térmica com gelo, de modo a evitar a degradação de seu conteúdo. Em laboratório as amostras foram conservadas em refrigerador.

Figura 13 - Coleta de amostra de água destinada ao teste toxicológico



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

3.5.5 Testes toxicológicos

Os crustáceos foram divididos aleatoriamente em número de 5 animais por tratamento e colocados em bêqueres identificados com o nome de cada ponto de coleta de água, submetidos a aeração mecânica constante, conforme ilustrado pela Figura 14. Os tratamentos foram identificados como: Controle (somente água de diluição) e a adição de água dos diferentes pontos de coleta, P1, P2, P3, P4 e P5.

Figura 14 - Teste toxicológico em andamento



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Neste mesmo intervalo, o número de organismos mortos era contabilizado e, caso fosse registrada mortandade, removia-se os mortos do recipiente em questão. Ao final de 96 h, os organismos restantes tiveram suas brânquias e hepatopâncreas removidos e armazenados em tubos de Eppendorf, devidamente identificados com a inicial do órgão em questão, o número do indivíduo a quem este pertencia e o nome do tratamento ao qual o crustáceo foi submetido. Por fim, os tubos foram submetidos à refrigeração, de modo a evitar a degradação dos órgãos.

3.5.6 Preparação para análises

Os tubos contendo os órgãos foram retirados do refrigerador e mantidos à temperatura ambiente, de modo a facilitar seu posterior manuseio (Figura 15). Após o degelo, alíquotas destes foram retiradas, armazenadas em novos tubos de Eppendorf, e tiveram suas massas

afeirdas e anotadas numa planilha. Ato contínuo, adicionou-se solução-tampão das respectivas enzimas aos recipientes, nas seguintes proporções: 1,0 mL de solução em 5,0 mg de amostra para CAT e 1,0 mL de solução para 50,0 mg de amostra para GST, seguindo os protocolos estabelecidos por Beutler (1975) e Keen et al. (1976), respectivamente.

Figura 15 - Amostra de hepatopâncreas identificada, antes do processo de homogeneização



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Os tecidos foram homogeneizados com o auxílio de um agitador mecânico e deixados em repouso sob refrigeração até o momento da análise (Figura 16). Para a análise dos níveis de proteínas, não foram necessários procedimentos específicos de preparação das amostras.

Figura 16 - Processo de homogeneização de amostra



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

3.5.7 Análises

3.5.7.1 Catalase

As amostras homogeneizadas foram mantidas à temperatura ambiente e reservadas. Preparou-se um substrato com uma proporção de 290,0 μL de H_2O_2 para 10,0 mL de água milliQ. Acondicionou-se as amostras em cubetas de quartzo, seguindo o protocolo estabelecido por Beutler (1975). Na cubeta destinada ao branco, adicionou-se somente 2,0 mL de solução tampão de catalase. Nas demais, foram adicionados 20 mL de solução tampão de catalase, 20,0 μL da amostra a ser analisada e 20,0 μL de substrato de peróxido de hidrogênio. Sequencialmente, inseriu-se as cubetas em um espectrofotômetro modelo T70+, da marca PG Instruments Ltd.. Estabeleceu-se um comprimento de onda de 240 nm no equipamento e deu-se início às leituras das absorbâncias das amostras, realizadas por 10 vezes com um intervalo de 1 minuto entre cada uma delas. Ao final da análise, os valores obtidos foram transferidos para uma planilha eletrônica, objetivando gerar uma equação linear para cada amostra e, num

segundo momento, utilizar seus respectivos coeficientes lineares para o cálculo final da atividade da enzima, determinada por meio da seguinte equação, adaptada de Beutler (1975).

$$\text{Ativ.} = \text{CL}/0,00071\text{Prot} \quad (3)$$

Sendo que:

Ativ. = Atividade da enzima ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizada min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$);

CL = Coeficiente linear da reta gerada com as repetições dos valores de absorbância de cada amostra;

Prot. = Teor de proteínas obtido para cada amostra.

3.5.7.2 Glutationa S-transferase

Duas soluções foram preparadas como substratos, uma com a razão de 0,03 g de GSH para 1,0 mL de solução tampão de glutationa S-transferase e outra com 0,02 g de CDBN para 1,0 mL de álcool 96° GL. Uma vez prontos os substratos, adotou-se os procedimentos estabelecidos no protocolo proposto por Keen et al. (1976). Adicionou-se em uma cubeta de quartzo, como branco, 2,5 mL de solução tampão de GSH. Nas demais cubetas, foram adicionados 2,5 mL de solução tampão, 50,0 μL de amostra, 150,0 μL de substrato de CDBN e 150,0 μL de substrato de GSH. Por fim, selecionou-se no espectrofotômetro um comprimento de onda de 340 nm e procedeu-se com o início das leituras das absorbâncias das amostras, realizadas por 10 vezes com um intervalo de 1 minuto entre cada uma delas. Ao final da análise, os valores obtidos foram transferidos para uma planilha eletrônica, de modo a gerar uma equação linear para cada amostra e, num segundo momento, utilizar seus respectivos coeficientes lineares para o cálculo final da atividade da enzima, determinada por meio da seguinte equação, adaptada de Keen (1976):

$$\text{Ativ.} = [(9,6\text{Prot}/\text{CL})]100 \quad (4)$$

Sendo que:

Ativ. = Atividade da enzima (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹);

CL = Coeficiente linear da reta gerada com as repetições dos valores de absorbância de cada amostra;

Prot. = Teor de proteínas obtido para cada amostra.

3.5.7.3 Proteínas

Após as análises referentes às atividades enzimáticas, aferiu-se as absorbâncias dos teores de proteínas de cada amostra. Uma vez que as proteínas são responsáveis pelos processos de metabolização e conjugação dos substratos utilizados nas análises enzimáticas, estes valores são necessários para o cálculo da atividade da enzima em questão. Adicionou-se em cubetas plásticas, 50,0 µL de amostra, 20 mL de reagente de cor e 2 gotas de NaOH. Ajustou-se o comprimento de onda do equipamento em 550 nm e procedeu-se com as leituras. Ao final da análise, os valores obtidos foram transferidos para uma planilha eletrônica, de modo a gerar uma equação linear para cada amostra e, num segundo momento, utilizar seus respectivos coeficientes lineares para o cálculo final da atividade da enzima.

3.6 RESULTADOS

São mostradas na Tabela 15 as concentrações dos metais: prata, cádmio, cobre, ferro, chumbo e zinco de locais próximos aos cinco pontos de coleta das amostras de água coletadas para os testes de toxicidade com os organismos.

Tabela 15 – Concentrações estimadas de prata, cádmio, cobre, ferro, chumbo (ppb) nos pontos de coleta de água

Ponto	Ag	Cd	Cu	Fe	Pb	Zn
P1	44,528	0,000	23,173	13746,454	320,779	26,702
P2	44,528	0,000	23,173	13746,454	320,779	26,702
P3	113,408	4,190	17,787	154,340	446,205	0,000
P4	44,528	0,000	23,173	13746,454	320,779	26,702
P5	143,440	0,575	27,622	354,834	422,657	0,059

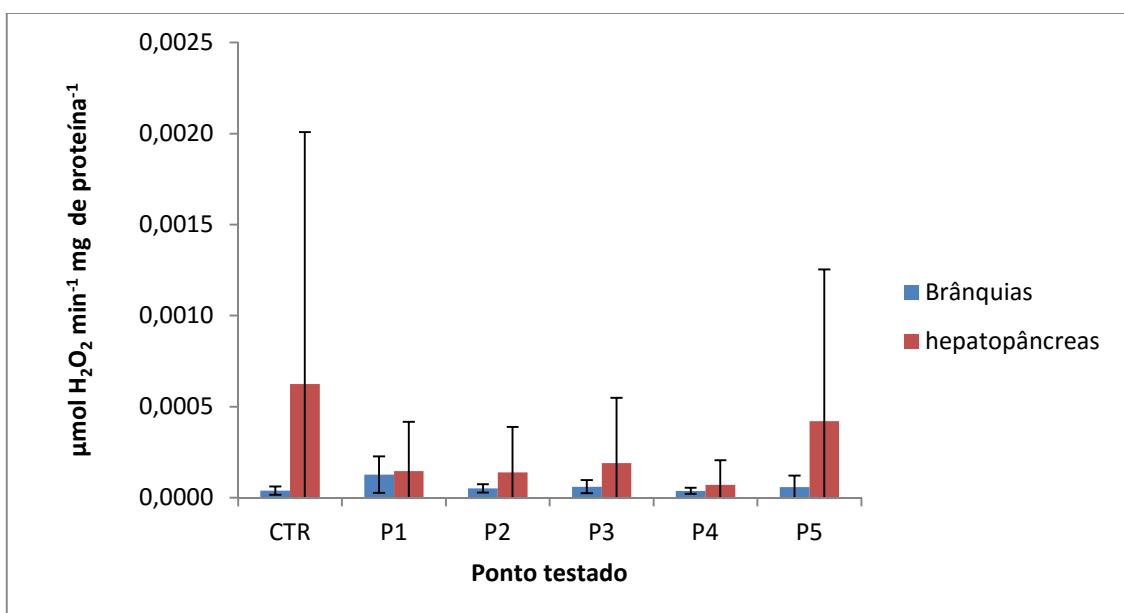
Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Por meio desses resultados pode-se observar a concentração de cada metal acima citado nos diferentes locais de coleta. Apenas o cádmio foi encontrado em baixas concentrações, nos pontos P3 e P5, nos demais locais não se detectou sua presença. Nota-se também que o cobre e o ferro e o chumbo possuem concentrações mais elevadas em todos os pontos amostrados.

3.6.1 CAT

Os níveis de atividade obtidos tanto para as brânquias quanto para os hepatopâncreas no período do inverno estão expressos no Gráfico 11.

Gráfico 11 - Atividades médias da enzima CAT registradas durante o inverno



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

A diferença das atividades, registrada entre os órgãos, foi 16 vezes maior no Controle e 7,2 vezes superior no ponto P5. O ponto P1 apresentou a menor diferença de atividade entre os dois órgãos estudados, com a registrada no hepatopâncreas sendo aproximadamente 1,2 vez superior à detectada nas brânquias. No ponto P2, a atividade mostrou ser 2,7 vezes maior no hepatopâncreas. No ponto P3, 3,1 vezes e, no ponto P4, 2,9 vezes.

A Tabela 16 apresenta valores obtidos de parâmetros de estatística descritiva para a atividade enzimática nas brânquias.

Tabela 16 - Estatísticas descritivas relativas à atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} mg de proteína $^{-1}$) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	$3,95 \times 10^{-5}$	$1,27 \times 10^{-4}$	$5,12 \times 10^{-5}$	$6,08 \times 10^{-5}$	$3,79 \times 10^{-5}$	$5,84 \times 10^{-5}$
Mediana	$2,84 \times 10^{-5}$	$1,20 \times 10^{-4}$	$5,78 \times 10^{-5}$	$5,70 \times 10^{-5}$	$3,37 \times 10^{-5}$	$3,29 \times 10^{-5}$
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	$2,34 \times 10^{-5}$	$2,68 \times 10^{-5}$	$1,82 \times 10^{-5}$	$1,74 \times 10^{-5}$	$2,38 \times 10^{-5}$	$1,73 \times 10^{-5}$
Máximo	$7,71 \times 10^{-5}$	$2,93 \times 10^{-4}$	$7,09 \times 10^{-5}$	$1,18 \times 10^{-4}$	$6,03 \times 10^{-5}$	$1,51 \times 10^{-4}$
Desvio padrão	$2,28 \times 10^{-5}$	$1,01 \times 10^{-5}$	$2,31 \times 10^{-5}$	$3,67 \times 10^{-5}$	$1,66 \times 10^{-5}$	$6,26 \times 10^{-5}$
Coef. de variação (%)	57,722	79,505	45,174	60,359	43,691	107,135
Assimetria	1,537	1,404	-1,453	0,862	1,054	1,804
Curtose	1,914	2,590	2,268	1,827	-0,020	3,253

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente.

Observa-se pelos valores médios que houve inibição da atividade da enzima, em relação ao Controle, nos tratamentos P1 e P4. Nos demais pontos, a atividade demonstrou ser superior à do Controle. O maior valor médio, assim como o da mediana, foi encontrado no ponto P1. Já a maior mediana foi registrada no ponto P3, com a menor pertencendo ao ponto P2. Tendo em vista o fato de que não houve valores idênticos de atividade em nenhum dos 6 pontos analisados, não existem valores de moda. O menor valor mínimo foi encontrado no ponto P5, com o maior sendo registrado no ponto P1. O maior valor máximo ocorreu no ponto P1; já o menor, no ponto P4.

Em relação aos desvios padrão, os valores encontrados foram considerados baixos, sendo o menor no P1 e o maior no P5.

No que tange aos coeficientes de variação, os valores indicam dados heterogêneos em todos os pontos analisados, com destaque para o ponto P5, cujo valor superou os 100%.

Levando em consideração os dados de assimetria, todos os pontos, com exceção ao P2, que possui mediana superior à sua média, apresentaram valores positivos. Cotejando os dados relativos à curtose, somente o ponto P4 apresentou um valor negativo, o que indica que sua distribuição de valores é considerada platicúrtica, mais afastada em relação à média. Os demais pontos possuem valores positivos, portanto, suas observações seguem uma distribuição leptocúrtica, mais próxima à média. Na Tabela 17 encontra-se o teste comparativo de médias.

Tabela 17 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student.

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	$3,95 \times 10^{-5}$ <i>b</i>
P1	$1,27 \times 10^{-4}$ <i>a</i>
P2	$5,12 \times 10^{-5}$ <i>a b</i>
P3	$6,08 \times 10^{-5}$ <i>a b</i>
P4	$3,79 \times 10^{-5}$ <i>b</i>
P5	$5,84 \times 10^{-5}$ <i>a b</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student.

Nota-se que há diferença estatisticamente significativa entre as atividades dos tratamentos Controle e P1 e entre P1 e P4. Os pontos P2, P3, P4 e P5 não demonstram diferença.

Com relação aos dados dos hepatopâncreas, a Tabela 18 apresenta os dados das estatísticas descritivas relativas.

Tabela 18 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	$6,29 \times 10^{-4}$	$1,46 \times 10^{-4}$	$1,38 \times 10^{-4}$	$1,90 \times 10^{-4}$	$7,07 \times 10^{-5}$	$4,21 \times 10^{-4}$
Mediana	$3,92 \times 10^{-6}$	$1,53 \times 10^{-5}$	$2,01 \times 10^{-5}$	$1,15 \times 10^{-5}$	$3,48 \times 10^{-6}$	$5,83 \times 10^{-6}$
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	$1,34 \times 10^{-6}$	$3,61 \times 10^{-6}$	$3,69 \times 10^{-6}$	$8,65 \times 10^{-6}$	$1,65 \times 10^{-6}$	$9,08 \times 10^{-7}$
Máximo	0,00310	$5,52 \times 10^{-4}$	$5,83 \times 10^{-4}$	$7,27 \times 10^{-4}$	$2,74 \times 10^{-4}$	0,00167
Desvio padrão	0,00138	$2,70 \times 10^{-4}$	$2,51 \times 10^{-4}$	$3,58 \times 10^{-4}$	$1,36 \times 10^{-4}$	$8,34 \times 10^{-4}$
Coef. de variação (%)	221,205	184,468	181,437	188,902	191,882	198,013
Assimetria	2,236	1,997	2,152	1,999	1,999	1,999
Curtose	4,999	3,990	4,673	3,999	3,999	3,999

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente.

Conforme anteriormente mencionado, os maiores valores médios de atividade enzimática foram encontrados nos pontos Controle e P5, respectivamente. Os demais pontos apresentaram valores semelhantes, com exceção do ponto P4, de menor grandeza.

A mediana teve seu valor máximo calculado no ponto P2, enquanto seu valor mínimo pertence ao ponto P4.

Assim como nas análises efetuadas nas brânquias, não houve repetição de valores de atividade para os pontos na análise efetuada nos hepatopâncreas. Consequentemente, também não há valores de moda calculados para este órgão. O menor valor mínimo foi-detectado no P5 e o maior no ponto P3. Em relação às atividades enzimáticas máximas, o Controle apresentou o maior valor, seguido de P5, enquanto que P4 registrou o de menor grandeza.

Os coeficientes de variação demonstraram ser consideravelmente elevados, indicando uma alta heterogeneidade entre os conjuntos de dados de cada ponto, com o valor referente ao Controle destoando-se dos demais, superando os 221%.

Todos os índices de assimetria obtidos são positivos, sendo que os pontos P3, P4 e P5 apresentaram valores iguais até a terceira casa decimal. O Controle e o ponto P2 possuem valores de maior grandeza se comparados aos demais.

Os valores de curtose foram positivos e elevados em todos os pontos mensurados, o que indica que as distribuições das atividades são leptocúrticas, consideravelmente próximas aos valores médios.

Na Tabela 19 encontram-se o teste comparativo de médias, onde constata-se que não há diferença estatisticamente relevante ao nível de significância de 5% entre as atividades enzimáticas médias obtidas nos tratamentos em questão.

Tabela 19 - Comparação entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado $\text{min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

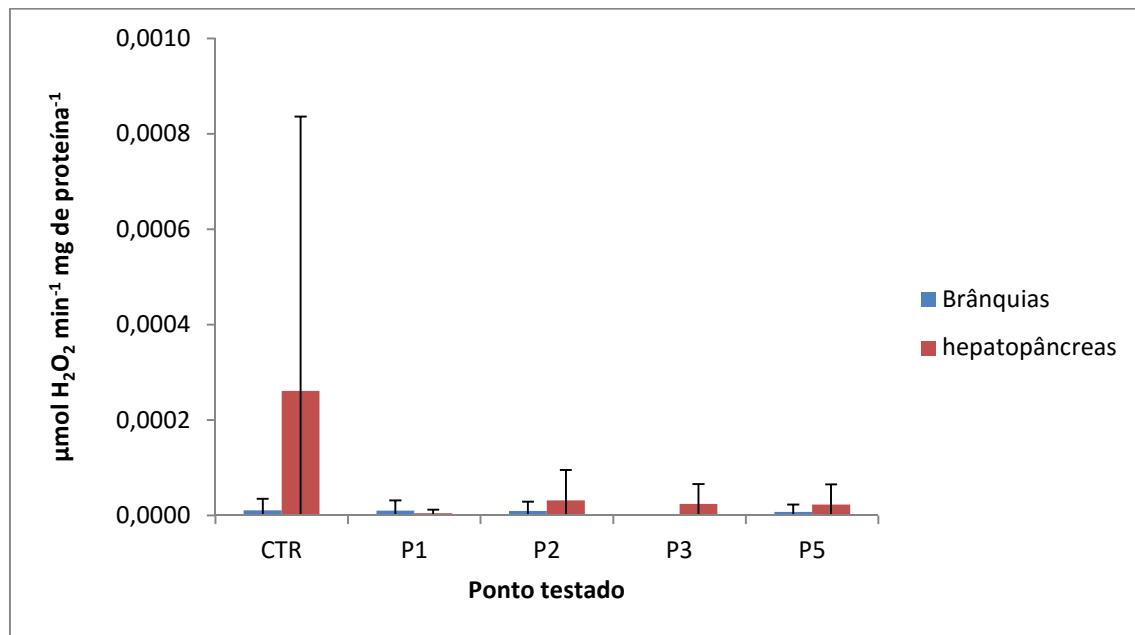
Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	$6,25 \times 10^{-4} \text{ a}$
P1	$1,46 \times 10^{-4} \text{ a}$
P2	$1,38 \times 10^{-4} \text{ a}$
P3	$1,90 \times 10^{-4} \text{ a}$
P4	$7,07 \times 10^{-4} \text{ a}$
P5	$4,21 \times 10^{-4} \text{ a}$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student.

Os níveis médios de atividade obtidos tanto para as brânquias quanto para os hepatopâncreas no período do verão estão expressos no Gráfico 12. Cabe ressaltar que não foi possível proceder com as análises referentes ao ponto P4 durante esta estação, devido a uma falha no aerador que oxigenava o meio neste ponto. Por conta disto, constatou-se a morte dos indivíduos, e o ponto foi excluído do teste.

Gráfico 12 - Atividades médias da enzima CAT registradas durante o verão



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Assim como no inverno, as atividades médias registradas nos hepatopâncreas foram superiores às detectadas nas brânquias, com destaque para os pontos Controle, no qual houve uma diferença de aproximadamente 24 vezes, e P3, no qual verificou-se uma diferença de aproximadamente 43 vezes. A exceção, neste caso, encontra-se no ponto P1, no qual a atividade nas brânquias acabou sendo superior a mais de 2 vezes à encontrada nos hepatopâncreas. No ponto P2, os hepatopâncreas apresentaram uma atividade enzimática 3,29 vezes superior à das brânquias e 3,09 vezes maior no ponto P5.

O maior erro-padrão pertence às amostras de hepatopâncreas do Controle, enquanto que o menor valor relativo a este parâmetro foi encontrado nas brânquias analisadas no ponto P3.

A Tabela 20 apresenta valores obtidos de parâmetros de estatística descritiva para a atividade enzimática nas brânquias.

Tabela 20 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	$1,10 \times 10^{-5}$	$1,04 \times 10^{-5}$	$9,71 \times 10^{-6}$	$5,71 \times 10^{-7}$	N.M.	$7,53 \times 10^{-6}$
Mediana	$1,33 \times 10^{-6}$	$4,83 \times 10^{-7}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$5,56 \times 10^{-7}$	N.M.	$1,05 \times 10^{-6}$
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	$1,21 \times 10^{-7}$	$1,41 \times 10^{-7}$	$2,29 \times 10^{-7}$	$1,69 \times 10^{-7}$	N.M.	$2,58 \times 10^{-7}$
Máximo	$6,03 \times 10^{-5}$	$4,88 \times 10^{-5}$	$4,45 \times 10^{-5}$	$1,00 \times 10^{-6}$	N.M.	$3,48 \times 10^{-5}$
Desvio padrão	$2,42 \times 10^{-5}$	$2,15 \times 10^{-5}$	$1,95 \times 10^{-5}$	$3,41 \times 10^{-7}$	N.M.	$1,53 \times 10^{-5}$
Coef. de variação (%)	219,237	207,294	200,320	59,757	N.M.	202,513
Assimetria	2,442	2,227	2,227	0,266	N.M.	2,233
Curtose	5,970	4,968	4,966	1,531	N.M.	4,989

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente; N.M. = Não Mensurado(a).

Observa-se que a maior atividade média foi registrada no Controle, sendo ligeiramente superior à observada em P1. Estes dois pontos apresentam valores consideravelmente superiores aos obtidos nos demais tratamentos, principalmente em relação a P3, que registrou a menor atividade média. Portanto, houve a inibição da atividade da enzima, em relação ao Controle, em todos os pontos analisados.

Em relação à mediana, o maior valor foi obtido no Controle, com P2 e P5 registrando valores bastante próximos e P3 tendo o menor valor.

Não foram obtidos valores de moda, uma vez que não houve repetição dos valores de atividade obtidos nos tratamentos utilizados no teste.

Os valores mínimos obtidos são muito próximos em todos os pontos, com P5 possuindo o maior, e o Controle o menor.

No que diz respeito aos valores máximos, o Controle registrou o maior valor, enquanto que P5 obteve o menor.

Percebe-se também que os desvios-padrão calculados possuem valores próximos em todos os tratamentos aplicados, com exceção do ponto P3.

Os coeficientes de variação calculados também mostraram ser elevados, sendo superiores a 200% em 4 dos 5 pontos testados. P3 apresentou um valor de aproximadamente

60%, também considerado elevado. Portanto, pode-se afirmar que os conjuntos de valores de atividade enzimática são consideravelmente heterogêneos.

Os valores de assimetria foram positivos em todos os pontos, sendo que o maior pertence ao Controle; P3 possui o menor valor, inclusive destoando-se dos demais.

Levando-se em consideração os valores de curtose, pode-se afirmar que as distribuições das atividades obtidas nas amostras são leptocúrticas, sendo que, com exceção de P3, estas se encontram consideravelmente próximas à distribuição normal.

O teste comparativo de médias encontra-se na Tabela 21, onde constata-se que não há diferença estatisticamente relevante ao nível de significância de 5% entre as atividades enzimáticas médias obtidas nos tratamentos em questão.

Tabela 21 - Comparaçao entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	$1,10 \times 10^{-5} \text{ a}$
P1	$1,04 \times 10^{-5} \text{ a}$
P2	$9,71 \times 10^{-6} \text{ a}$
P3	$5,71 \times 10^{-7} \text{ a}$
P4	N.M.
P5	$7,53 \times 10^{-6} \text{ a}$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student; N.M. = Não Mensurada.

Na Tabela 22 está contido o resumo estatístico dos valores de atividade obtidos nos hepatopâncreas.

Tabela 22 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão (Continua)

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	$2,61 \times 10^{-4}$	$4,68 \times 10^{-6}$	$3,19 \times 10^{-5}$	$2,44 \times 10^{-5}$	N.M.	$2,33 \times 10^{-5}$
Mediana	$9,33 \times 10^{-6}$	$1,13 \times 10^{-6}$	$4,69 \times 10^{-6}$	$5,02 \times 10^{-6}$	N.M.	$5,93 \times 10^{-6}$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.M. = Não Mensurado(a).

Tabela 22 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} mg de proteína $^{-1}$) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão (Conclusão)

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.M.	N.E.
Mínimo	$2,44 \times 10^{-6}$	$1,73 \times 10^{-7}$	$9,30 \times 10^{-7}$	$3,15 \times 10^{-6}$	N.M.	$1,15 \times 10^{-7}$
Máximo	0,00143	$1,80 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-4}$	$9,85 \times 10^{-5}$	N.M.	$9,85 \times 10^{-5}$
Desvio padrão	$5,75 \times 10^{-4}$	$7,55 \times 10^{-6}$	$6,36 \times 10^{-5}$	$4,15 \times 10^{-5}$	N.M.	$4,21 \times 10^{-5}$
Coef. de variação (%)	220,446	161,737	199,518	169,973	N.M.	181,057
Assimetria	2,423	2,104	2,230	2,212	N.M.	2,210
Curtose	5,894	4,485	4,978	4,912	N.M.	4,911

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não existente; N.M. = Não Mensurado(a).

A atividade média no Controle mostra ser significantemente superior à calculada nos demais pontos, o que evidencia a inibição ocorrida nestes em relação ao Controle. Os pontos P2, P3 e P5 apresentam valores similares; já P1, o menor registrado.

Em relação à mediana, observa-se valores próximos em todos os tratamentos, com o Controle possuindo o maior e P1 o menor.

A maior atividade enzimática mínima foi determinada no ponto P3; já a menor, no tratamento P5.

Cotejando-se os valores máximos, o maior foi obtido no Controle, sendo consideravelmente superior ao encontrado principalmente no ponto P1, que apresentou o menor valor máximo de atividade.

Os coeficientes de variação indicam uma alta heterogeneidade nos valores obtidos em cada amostra analisada nos diferentes pontos. Em todos os tratamentos, os valores ultrapassam os 160%, sendo que o controle atinge aproximadamente 221%.

Considerando-se os valores dos índices de assimetria, nota-se que todos são bastante próximos, além de serem positivos. O maior destes foi registrado no Controle, enquanto que o menor pertence a P1.

É também perceptível que os índices de curtose obtidos são elevados em todos os tratamentos adotados, fazendo com que as distribuições dos valores obtidos nas amostras analisadas em cada um esteja próxima da distribuição normal. Aqui, destaca-se o valor referente ao Controle, ainda mais alto do que os demais.

Além da análise de parâmetros descritivos, procedeu-se com a análise de diferença estatística entre as atividades médias de cada ponto. Para tal, efetuou-se um teste *t* de Student com um nível de significância de 5%, cujos resultados estão expressos a seguir, na Tabela 23.

Tabela 23 - Comparaçao entre as médias das atividades de CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ metabolizado min^{-1} $\text{mg de proteína}^{-1}$) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	$2,61 \times 10^{-4} \text{ a}$
P1	$4,68 \times 10^{-6} \text{ a}$
P2	$3,19 \times 10^{-5} \text{ a}$
P3	$2,44 \times 10^{-5} \text{ a}$
P4	N.M.
P5	$2,33 \times 10^{-5} \text{ a}$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

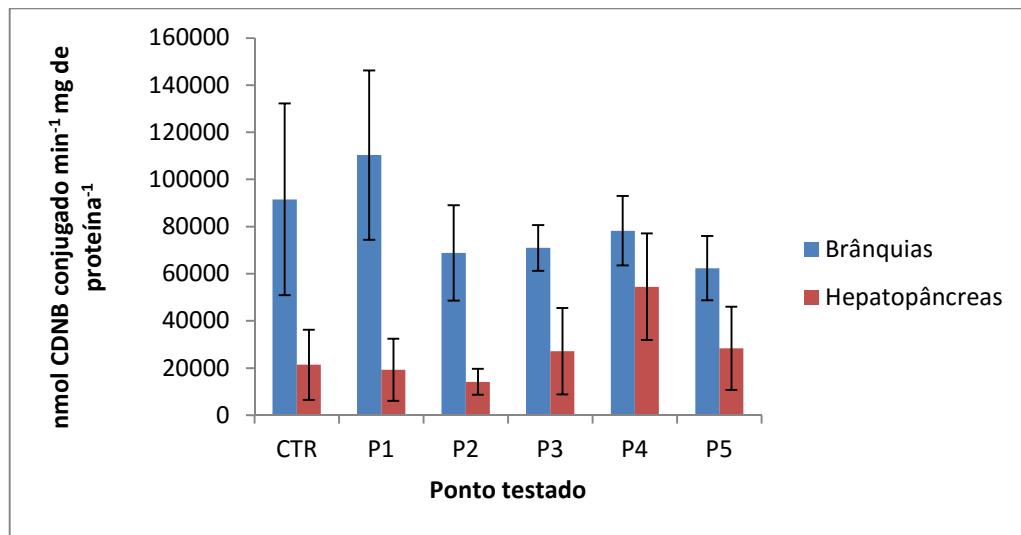
Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student; N.M. = Não Mensurada.

Conforme a tabela acima, não há diferença estatisticamente relevante ao nível de significância de 5% entre as atividades enzimáticas médias obtidas nos tratamentos em questão.

3.6.2 GST

Os níveis de atividade obtidos tanto para as brânquias quanto para os hepatopâncreas no período do inverno estão expressos no Gráfico 13.

Gráfico 13 - Atividades médias da enzima GST registradas durante o inverno



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

De forma contrária à observada para a enzima CAT, a GST apresentou, em todos os pontos analisados, atividades maiores nas brânquias, se comparadas às obtidas no hepatopâncreas. A maior diferença entre os valores referentes a ambos os órgãos foi registrada no ponto P2, no qual a atividade nas brânquias foi 4,87 vezes superior à mensurada no hepatopâncreas. Já a menor diferença ocorre em P4, sendo apenas 1,44 vez maior nas brânquias. No Controle este órgão registrou atividade enzimática 4,27 vezes superior; 3,43 vezes em P1; 2,6 vezes em P3 e 2,2 vezes no tratamento P5.

Os maiores erros padrão foram obtidos nas brânquias dos tratamentos Controle e P1. Já os menores são referentes às brânquias do ponto P3 e aos hepatopâncreas do ponto P2.

A Tabela 24 expressa os valores obtidos de parâmetros de estatística descritiva para a atividade enzimática nas brânquias.

Tabela 24 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno (Continua)

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	91527,62	110330,05	68777,50	70986,96	78233,38	62371,20
Mediana	83359,47	84913,74	72971,14	67138,65	83361,23	54767,13
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente.

Tabela 24 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima GST (nmol CDBN conjugado min^{-1} mg de proteína $^{-1}$) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno (Conclusão)

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Mínimo	39907,67	65003,73	44843,69	59541,43	56553,27	54269,66
Máximo	142925,16	208687,31	93948,33	84359,30	89657,79	78076,85
Desvio padrão	40671,41	57492,43	20243,02	9706,10	14756,06	13603,76
Coef. de variação (%)	44,44	52,11	29,43	13,67	18,86	21,81
Assimetria	0,08	1,79	-0,05	0,48	-1,75	1,73
Curtose	-1,17	3,32	-1,84	-0,83	3,33	N.E.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente.

Observa-se que há certa disparidade entre os valores médios de atividade obtidos para os tratamentos aplicados, com P1 possuindo o maior valor e P5 o inferior. Portanto, P1 registrou atividade média superior à do Controle, enquanto que nos demais pontos houve a inibição da enzima.

O ponto P1 também registrou o maior valor de mediana, seguido por P4 e pelo Controle; P5 possuiu o menor valor referente a este parâmetro.

O tratamento Controle, em relação aos mínimos de atividade enzimática, registrou o menor dos valores; já o maior foi registrado pelo ponto P1. No entanto, o maior valor máximo foi obtido por este mesmo tratamento, sendo consideravelmente superior aos registrados pelos demais.

Os coeficientes de variação calculados para a atividade desta enzima são considerados baixos para a maioria dos tratamentos, com P2, P3, P4 e P5 possuindo valores inferiores a 30%, indicando menor heterogeneidade dos dados. Os tratamentos Controle e P1 apresentaram valores superiores a 40%.

No que diz respeito aos índices de assimetria, P2 e P4 obtiveram valores negativos, enquanto que os demais pontos registraram valores de ordem positiva.

Considerando os índices de curtose, P1 e P4 registraram valores elevados e positivos, indicando que as distribuições de valores de atividade dos pontos em questão encontram-se próximos à média. No entanto, o Controle, P1 e P3 registraram valores negativos, caracterizando atividades mais distantes da média. P5 não registrou índice de curtose.

No tocante ao teste de médias, expresso na Tabela 25, não há diferença estatisticamente relevante ao nível de significância de 5% entre as atividades enzimáticas médias.

Tabela 25 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	91527,62 <i>a</i>
P1	110330,05 <i>a</i>
P2	68777,50 <i>a</i>
P3	70986,96 <i>a</i>
P4	78233,38 <i>a</i>
P5	62371,20 <i>a</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student.

A Tabela 26 apresenta o resumo estatístico dos valores de atividade obtidos nos hepatopâncreas.

Tabela 26 - Estatísticas descritivas obtidas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do inverno

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	21408,61	19271,84	14113,32	27095,46	54456,07	28345,38
Mediana	17902,10	16420,17	14156,68	21276,20	48253,19	34035,60
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	2436,16	2395,50	7681,83	11692,89	36255,43	3886,64
Máximo	40706,25	34223,87	21821,68	58207,59	85062,47	41423,69
Desvio padrão	14851,72	13125,78	5503,64	18332,83	22626,13	17620,06
Coef. de variação (%)	69,37	68,11	39,00	67,66	41,55	62,16
Assimetria	0,12	0,02	0,38	1,70	1,07	-1,26
Curtose	-0,82	-1,99	-0,53	3,13	-0,11	0,78

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente.

Em relação às atividades médias, observa-se que P4 obteve um valor consideravelmente superior aos demais. P2 registrou o mais inferior dos valores, seguido de P1.

Os pontos P4 e P5, além de possuírem maiores médias, registram os maiores valores de mediana, com os menores associados aos tratamentos P2, P1 e Controle, respectivamente.

Os maiores valores mínimos de atividade são constatados nos pontos P4 e P3, respectivamente, com o P4 sendo superior em relação aos demais. A menor atividade mínima foi observada no tratamento P1, seguida pelo Controle.

Além de registrar a maior atividade mínima, P4 também apresentou um valor máximo superior comparado aos demais, sendo aproximadamente 4 vezes maior em relação ao menor, pertencente a P2. O P2 apresentou o menor dos desvios padrão calculados e o P4 o maior.

Todos os coeficientes de variação demonstram ser elevados, indicando alta heterogeneidade das séries de observações relativas a cada tratamento.

Em relação aos índices de assimetria, destaca-se o baixo valor positivo calculado para o ponto P1, consideravelmente inferior aos demais. Controle e P2 também apresentam valores positivos, mas reduzidos.

Considerando os índices de curtose, P3 e P5 apresentaram valores positivos, enquanto que os demais tratamentos registraram valores negativos, tendo, assim, distribuições de dados mais distantes de suas respectivas médias.

Na Tabela 27 encontra-se o teste comparativo de médias, constatando-se que somente a média referente ao ponto P4 apresenta diferença expressiva em relação às demais a 5% de significância, dado o fato de seu valor ser consideravelmente mais elevado.

Tabela 27 - Comparação entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de inverno, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

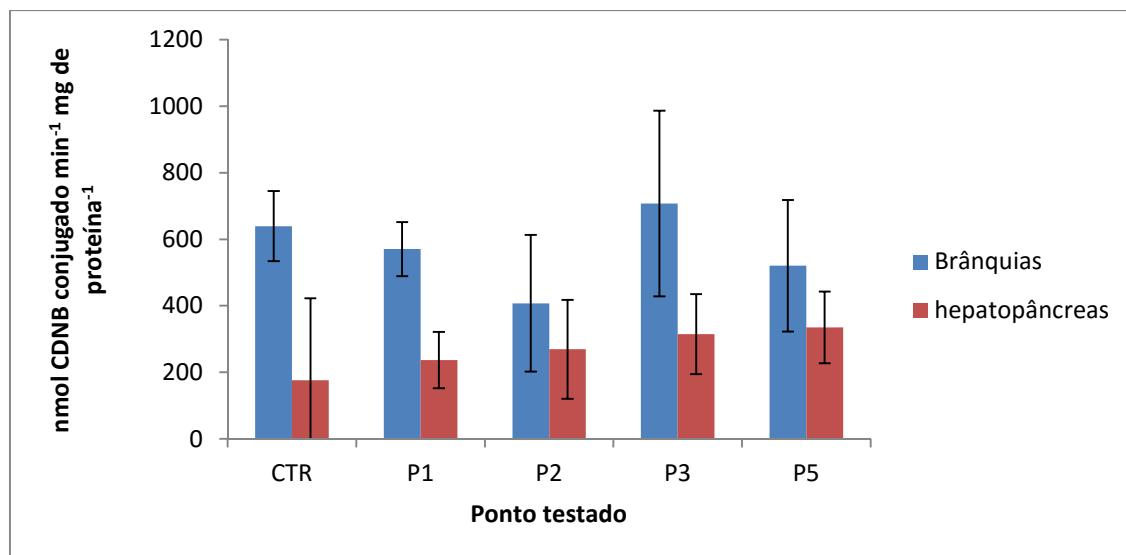
Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	21408,61 b
P1	19271,84 b
P2	14113,32 b
P3	27095,46 b
P4	54456,07 a
P5	28345,38 b

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student.

Os níveis médios de atividade obtidos tanto para as brânquias quanto para os hepatopâncreas no período do verão estão expressos no Gráfico 14.

Gráfico 14 - Atividades médias da enzima GST registradas durante o verão



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Em relação às análises conduzidas no período de inverno, as atividades enzimáticas médias apresentam valores de ordem consideravelmente inferior.

Ao comparar os comportamentos das atividades em um mesmo ponto, estes são similares, com as brânquias registrando valores superiores em relação aos dos hepatopâncreas em todos os tratamentos utilizados. A maior diferença é observada no Controle, no qual a atividade média nas brânquias atingiu um valor aproximadamente 3,6 vezes superior. Já a menor diferença pertence ao ponto P2, cujo valor é 1,5 vez superior neste mesmo órgão.

No que diz respeito aos erros padrão calculados, o ponto P1 possui os menores valores. Os maiores pertencem ao P3, referente às brânquias e ao Controle, relativo aos hepatopâncreas.

Na Tabela 28 encontram-se os parâmetros das estatísticas descritivas para a atividade enzimática nas brânquias.

Tabela 28 - Estatísticas descritivas obtidas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) nas brânquias dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão (Continua)

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	639,35	570,43	407,56	707,65	N.M.	520,25
Mediana	683,20	594,23	327,23	810,64	N.M.	450,05
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	471,85	448,42	228,23	237,69	N.M.	305,42
Máximo	733,55	647,17	730,23	945,82	N.M.	769,17
Desvio padrão	105,12	81,09	205,55	278,98	N.M.	198,14
Coef. de variação (%)	16,44	14,21	50,43	39,42	N.M.	38,09
Assimetria	-1,01	-0,93	1,20	-1,65	N.M.	0,40
Curtose	-0,64	-0,16	0,65	2,86	N.M.	-2,31

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente; N.M. = Não Mensurado(a).

De acordo com os valores médios, observa-se que ocorreu a inibição da atividade em relação à detectada no Controle em 3 pontos P1, P2 e P5. O P3 registrou um estímulo enzimático, dado seu valor médio superior ao do Controle.

Em relação aos valores de mediana, o P3 apresentou o maior valor, seguido pelo Controle. O ponto P2 apresentou o menor.

O ponto P2 mostrou o menor valor mínimo, seguido aproximadamente pelo ponto P3. Por outro lado, o Controle registrou a maior atividade mínima, seguido por P1.

Embora tenha a segunda menor atividade mínima, o P3 acabou por obter a maior atividade máxima. Os pontos P3 e P5 possuem valores próximos ao do Controle, e P1 o menor.

Os coeficientes de variação indicam homogeneidade nos conjuntos de observações referentes ao Controle e ao ponto P1. Já para o demais tratamentos, seus índices indicaram heterogeneidade.

A assimetria apresenta-se negativa em 3 pontos: Controle, P1 e P3, com este último possuindo a mais relevante delas. Os pontos P2 e P5 registraram assimetrias positivas, sendo maior no primeiro ponto.

No que diz respeito à curtose, mostra-se negativa no Controle e nos pontos P1 e P5, sendo mais relevante neste último. Os pontos P2 e P3 apresentaram valores positivos, com P3 possuindo o maior deles e, consequentemente, observações mais próximas à média.

No teste comparativo de médias (Tabela 29), a menor das atividades médias, referente ao ponto P2, somente apresenta diferença estatisticamente significativa a 5% em relação à atividade do ponto P3. Entre os demais valores obtidos, não observa-se diferença significativa.

Tabela 29 - Comparaçao entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) registradas nas brânquias, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	639,35 <i>a b</i>
P1	570,43 <i>a b</i>
P2	407,56 <i>b</i>
P3	707,65 <i>a</i>
P4	N.M.
P5	520,25 <i>a b</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student; N.M. = Não Mensurada.

A Tabela 30 apresenta o resumo estatístico dos valores de atividade obtidos nos hepatopâncreas.

Tabela 30 - Estatísticas descritivas para a atividade da enzima GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) nos hepatopâncreas dos indivíduos no teste realizado durante o período do verão

Parâmetro estatístico	CTR	P1	P2	P3	P4	P5
Média	176,32	236,89	269,09	314,64	N.M.	335,21
Mediana	74,33	214,59	191,14	305,68	N.M.	330,96
Moda	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Mínimo	31,27	152,59	163,87	183,74	N.M.	226,56
Máximo	666,26	351,23	520,02	506,96	N.M.	475,99
Desvio padrão	246,14	84,46	148,57	120,20	N.M.	107,65
Coef. de variação (%)	139,60	35,65	55,21	38,20	N.M.	32,16
Assimetria	2,20	0,55	1,71	1,12	N.M.	0,30
Curtose	4,96	-1,78	2,74	2,03	N.M.	-1,94

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: N.E. = Não Existente; N.M. = Não Mensurado(a).

Ao observar-se os valores de média, nota-se que houve um estímulo de atividade em relação ao Controle em todos os pontos testados, com os P3 e P5 apresentando números superiores aos demais.

Os pontos P3 e P5, além de possuírem as maiores atividades médias, apresentaram os maiores valores de mediana; o Controle, por sua vez, apresentou o menor valor relativo a este parâmetro.

O Controle registrou o menor valor mínimo de atividade, consideravelmente inferior aos obtidos nos demais tratamentos, e o P5 apresentou o maior valor mínimo.

No que tange aos valores máximos, o Controle registrou o de maior ordem, sendo quase 2 vezes superior ao menor valor obtido, referente ao ponto P1.

Os coeficientes de variação apontam heterogeneidade das observações em todos os tratamentos, em especial no Controle, cujo valor ultrapassou os 100%.

Todos os pontos apresentaram índices positivos de assimetria, com o maior valor pertencendo ao Controle e o menor ao ponto P5.

Os pontos P1 e P5 apresentaram índices negativos de curtose. Por outro lado, o Controle, P2 e P3 possuem índices positivos.

Pelo teste de médias (Tabela 31), não há diferença estatisticamente significativa ao nível de significância de 5% entre as atividades enzimáticas médias obtidas nos tratamentos em questão.

Tabela 31 - Comparação entre as médias das atividades de GST (nmol CDNB conjugado min⁻¹ mg de proteína⁻¹) registradas nos hepatopâncreas, em cada ponto do teste conduzido no período de verão, ao nível de significância de 5% pelo teste *t* de Student

Ponto testado	Atividade enzimática média
CTR	172,32 <i>a</i>
P1	236,89 <i>a</i>
P2	269,09 <i>a</i>
P3	314,63 <i>a</i>
P4	N.M.
P5	335,21 <i>a</i>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Obs.: Médias nas colunas seguidas da mesma letra não diferem a 5% de significância pelo teste *t* de Student; N.M. = Não Mensurada.

3.7 DISCUSSÃO

A presença de metais no meio aquático, pode promover alterações enzimáticas, de forma direta ou indireta, através da produção de substâncias que podem interferir no seu funcionamento, levando a um desequilíbrio celular e metabólico. De acordo com Fridovich (2004), a formação de espécies reativas de oxigênio (H_2O_2 , O_2^- , OH), pode desestabilizar as defesas das células, levando a alterações em moléculas como proteínas, lipídeos e DNA.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram que o hepatopâncreas foi o tecido que melhor respondeu aos estímulos ambientais promovidos pela presença de metais no meio aquático. Apesar das brânquias estarem em contato direto com o meio, a atividades de ambas as enzimas não foram significativas neste tecido, assim como as apresentadas pelo hepatopâncreas. Este resultado corrobora com diversos trabalhos (BARATA et al., 2005; MAIN et al., 2010), que mostram que o hepatopâncreas tem como principal função a detoxificação de substâncias potencialmente tóxicas aos organismos. Dessa forma, este é o órgão de primeira passagem de todos os compostos que são introduzidos nos organismos, e o mais atingido pelos compostos tóxicos.

Apesar de estatisticamente os resultados não possuírem diferença significativa entre si, a atividade da enzima catalase tanto no inverno, quanto no verão, no hepatopâncreas das Aeglas, foi menor em todos os tratamentos com água coletada do lixão. Esse resultado mostra que a presença dos metais na água está interferindo na formação de EROS e na inibição da atividade da catalase neste tecido. Como trata-se de uma mistura de metais, não se pode afirmar qual interfere na atividade da enzima e nos demais processos metabólicos. Martín-Díaz et al. (2008), ao estudarem os efeitos de metais em *Carcinus maenas* (espécie marinha de crustáceo), detectaram um estímulo na atividade de glutationa S-transferase no hepatopâncreas causado por arsênio, cádmio, cromo, ferro, mercúrio, manganês e chumbo. Já Atli et al. (2006), verificaram inibição da catalase em brânquias do peixe de água doce *Oreochromis niloticus* causada por exposição ao íon Cr^{6+} , e o estímulo da mesma enzima causado por Cu^{3+} . Segundo Maria et al. (2009), isto confirma que há diferenças nos padrões de bioacumulação relacionados à espécie.

A glutationa reduzida participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos da lipoperoxidação e é requerida para a síntese de DNA, de proteínas e de algumas prostaglandinas (MEISTER et al., 1983; DENEKE et al., 1989; GALLEANO & PUNTARULO, 1994). Além disto, após a entrada de metais nas células esses tendem a ser complexados com compostos de baixo peso molecular, como o tripeptídeo glutationa, de modo a inibir ou reduzir suas ações deletérias (GIULIO et al., 1989). A glutationa S-transferase é

considerada uma importante enzima de desintoxicação, por metabolizar grande variedade de compostos xenobióticos orgânicos, por meio da conjugação destes com a glutatona reduzida, formando substâncias de baixa toxicidade.

Os resultados do presente estudo mostraram que a atividade da glutatona S-transferase tanto no inverno quanto no verão foi maior nas brânquias das Aeglas. Embora não houve variação significativa da atividade da enzima nos diferentes pontos de coleta de água, podemos observar uma maior variação da atividade da enzima neste tecido. As brânquias são responsáveis pelos processos de respiração, excreção de compostos nitrogenados e pela iono e osmorregulação. Dessa forma, as enzimas envolvidas nesses processos poderiam indicar se o tecido sofreu com a toxicidade dos metais presentes no meio aquático.

As enzimas catalase e glutatona S-transferase são biomarcadores considerados genéricos, ou seja, qualquer composto tóxico pode interferir na sua atividade. Como analisou-se a toxicidade de amostras de água coletadas em um lixão, o efeito da mistura sempre deverá ser considerado. Dessa forma, a presença de metais tais como: cobre, chumbo, zinco e ferro, mesmo em baixas concentrações, podem interferir de forma significativa no metabolismo das Aeglas, na atividade das enzimas ou na formação de EROs. Como citado anteriormente, o sinergismo ou potenciação do efeito de um metal ou de metais, pode acarretar nos danos observados no presente estudo.

Cabe ressaltar que apesar das coletas terem sido realizadas em períodos diferentes do ano, verão e inverno, os testes de toxicidade foram realizados em laboratório; portanto, a temperatura neste caso não seria um fator determinante nas alterações acima citadas.

Dessa forma, observa-se que os metais presentes na água estão promovendo alterações nas atividades da catalase e da glutatina S-transferase, tanto nas brânquias quanto no hepatopâncreas das Aeglas, resultando em danos no metabolismo desses organismos.

3.8 CONCLUSÃO

As águas coletadas nos corpos hídricos da área do aterro controlado desativado do município de Lages-SC, para a execução dos testes toxicológicos, possuem diversos metais tóxicos, oriundos da decomposição de resíduos e da consequente geração de chorume, que acaba por adentrar estes corpos hídricos em alguns pontos. No entanto, não foi possível afirmar quais dos metais presentes nas águas coletadas são os principais responsáveis por estimular o funcionamento das enzimas analisadas neste trabalho.

Ambas as enzimas registraram maiores atividades médias no inverno, com a glutationa S-transferase registrando uma maior diferença entre as estações em relação à catalase.

A enzima catalase teve sua atividade estimulada de maneira mais intensa nos hepatopâncreas dos indivíduos, não possuindo, neste órgão, diferença estatisticamente significativa entre os pontos testados em nenhuma das duas estações. No que tange à atividade nas brânquias, registrou-se diferença entre os pontos somente no inverno.

Em relação à enzima glutationa S-transferase, observou-se maior atividade nas brânquias em relação ao detectado nos hepatopâncreas. Houve diferença significativa entre pontos nas atividades das brânquias em ambas as estações. Já nos hepatopâncreas, P4 teve seu valor significativamente distinto ao dos demais tratamentos no inverno, enquanto que no verão não houve diferenças.

3.9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Tendo em vista o fato de que analisou-se o comportamento de duas das principais enzimas do mecanismo de defesa da espécie *Aegla jarai*, conclui-se que é de grande importância que sejam estudados outros aspectos e características da espécie num momento futuro, como, por exemplo, a influência de metais tóxicos e compostos específicos de diferentes fontes na atuação de outras enzimas atuantes no mecanismo de defesa (tais como a Superóxido-dismutase/SOD), e nos mecanismos de ionorregulação e osmorregulação (como Na^+,K^+ -ATPase, Ca^{++} -ATPase e Anidrase Carbônica). Outro aspecto importante a ser verificado na espécie é a influência da absorção destes compostos em seu metabolismo energético, analisando, por exemplo, as taxas de produção de proteínas, lipídios e glicose.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista o cenário atual do aterro controlado desativado do município de Lages-SC, é necessário que o monitoramento do local seja efetuado de forma contínua, analisando outras variáveis além das abordadas neste trabalho, bem como incluindo novas análises em relação ao que é atualmente estudado. Na área em questão, por exemplo, também faz-se necessária a avaliação constante da qualidade da água em termos físico-químicos e biológicos dos corpos hídricos que a atravessam, dos níveis de metais tóxicos nos sedimentos que compõem seus leitos, e a quantificação da geração de gases oriundos da decomposição dos resíduos depositados.

Diante de tal contexto, os dados obtidos podem ser utilizados para estabelecer uma comparação entre os cenários encontrados e, possivelmente, realizar previsões sobre a situação da área estudada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, D.C. **Trace elements in the terrestrial environment**. Nova Iorque: Springer-Verlag, 1986. 533 p.

ADRIANO, D.C. **Trace elements in the terrestrial environment**. 2. ed. Nova Iorque: Springer-Verlag, 2001. 867 p.

AFRIDI, H.I.; KAZI, T.G.; KAZI, G.H.; JAMALI, M.K.; SHAR, G.Q. Essential trace and toxic element distribution in the scalp hair of Pakistani myocardial infarction patients and controls. **Biological Trace Element Research**, v. 113, n. 1, p. 19–34, 2006.

AL-KHASHMAN, O.A.; SHAWABKEH, R.A. Metals distribution in soils around the cement factory in southern Jordan. **Environmental Pollution**, v. 140, p. 387-394, 2006.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association**, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 20 ed. Washington, 2671 p. 1999.

ATLI, G.; ALPTEKIN, Ö.; TÜKEL, S.; CANLI, M. Response of catalase activity to Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} , and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biology and Physiology, Part C**. v. 143, p. 218-224, 2006.

AZEVEDO, V.C. **Efeitos do cobre sobre o estresse oxidativo na anêmona-do-mar *Actinia bermudensis***. Rio Grande, 2011. 44 folhas. Monografia (Bacharelado em Oceanografia) – Graduação em Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande. 2011.

BADERNA, D.; MAGGIONI, S.; BORIANI, E.; GEMMA, S.; MOLTENI, M.; LOMBARDO, A.; COLOMBO, A.; BORDONALI, S.; ROTELLA, G.; LODI, M. BENFENATI, E. A combined approach to investigate the toxicity of industrial landfill's leachate: chemical analyses risk assessment and in vitro assays. **Environmental Research**, v. 111, p. 603–613, 2011.

BAI, J.; XIAO, R.; CUI, B.; ZHANG, K.; WANG, Q.; LIU, X.; GAO, H.; HUANG, L. Assessment of heavy metal pollution in wetland soils from the young and old reclaimed regions in the Pearl River Estuary, South China. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 817-824, 2011.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre, RS: Bookam, 2002. 622 p.

BARATA, C., VARO, I., NAVARRO, J.C., ARUN, S., PORTE, C. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 140, p. 175–186, 2005.

BATHIGE, S.D.N.K. et al. A mu class glutathione S-transferase from Manila clam *Ruditapes philippinarum* (RpGST μ): Cloning, mRNA expression, and conjugation assays. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**. v. 162, p. 85-95, 2014.

BECEGATO, V.A. **Aplicação de técnicas geofísicas e geoquímicas em duas glebas agrícolas no noroeste do estado do Paraná e suas relações com fertilizantes fosfatados**. Curitiba, 2005. 198 folhas. Tese (Doutorado em Geologia) – Programa de Pós-graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná. 2005.

BEUTLER, E. **Red Cell Metabolism: A manual of biochemical methods**. New York: Grune & Stratton. 1975.

BNDES. TEMA: Análise das Diversas Tecnologias de Tratamento e Disposição Final de Resíduos Sólidos no Brasil, Europa, Estados Unidos e Japão. Produto 7: Relatório final sobre as principais rotas tecnológicas de destinação de resíduos sólidos urbanos no exterior e no Brasil. **Pesquisa Científica**. 2010.

BOGUTA, P.; D'ORAZIO, V.; SOKOLOWSKA, Z.; SENESI, N. Effects of selected chemical and physicochemical properties of humic acids from peat soils on their interaction mechanisms with copper ions at various pHs. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 168, p. 119–126, 2016.

BOND-BUCKUP, G. Família Aeglidae, p. 21-116. In: MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo, SP: Editora Loyola, 429 p. 2003.

BOND-BUCKUP, G.; BUCKUP, L. **A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura)**. Arquivos de Zoologia. v. 2 (supl. 4); p. 159-346. 1994.

BOND-BUCKUP, G.; JARA, C.G.; PÉREZ-LOSADA, M.; BUCKUP, L.; CRANDALL, K. A. Global diversity of crabs (Aeglidae: Anomura: Decapoda) in freshwater...**Hydrobiologia**, v. 595, p. 267-273. 2008.

BOOS JÚNIOR, H.; CASTIGLIONI, D.F.; SCHACHT, K.; BUCKUP, L.; BOND-BUCKUP, G. Crescimento de *Aegla jarai* Bond-Buckup & Buckup (Crustacea, Anomura, Aeglidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, p. 490-496, 2006.

BRASIL. Resolução nº. 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 dez. 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> Acesso em: 22 mai. 2017.

BUCKUP, L.; BOND-BUCKUP, G. **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS: Universidade/UFRGS. 503 p. 1999.

BÜYÜKPINAR, Ç; MALTEPE, E.; CHORMEY, D.S.; SAN, N.; BAKIRDERE, S. Determination of nickel in water and soil samples at trace levels using photochemical vapor generation-batch type ultrasonication assisted gas liquid separator-atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 167 – 171, 2017.

CASALI, C.A.; MOTERLE, D.F.; RHEINHEIMER, D.S.; BRUNETTO, G.; CORCINI, A.L. M.; KAMINSKI, J.; MELO, G.W.B. Formas e dessorção de cobre em solos cultivados com videira na serra gaúcha do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1479-1487, 2008.

CECCONI, I.; SCALONI, A.; RASTELLI, G.; MORONI, M.; VILARDO, P.G.; COSTANTINO, L.; CAPPIELLO, M; GARLAND, D.; CARPER, D.; PETRASH, J.M.; DEL CORSO, A.; MURA, U. Oxidative modification of aldose reductase induced by copper ion. Definition of the metal–protein interaction mechanism. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 42017–42027, 2002.

CELERE, M.S.; OLIVEIRA, A.S.; TREVILATO, T.M.B.; SEGURA-MUÑOZ, S.I. Metais presentes em chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, e sua relevância para saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 939-947, 2007.

CETESB. Decisão de Diretoria nº 256/2016/e, de 22 de novembro de 2016. Dispõe sobre a aprovação dos “Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2016” e dá outras providências. **Diário Oficial Estado de São Paulo**, São Paulo, SP, 26 nov. 2016. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/11/2014/12/DD-256-2016-E-Valores-Orientadores-Dioxinas-e-Furanos-2016-Intranet.pdf>>. Acesso em 30 jun. 2017.

CHAVES, E. V. **Absorção de metais pesados de solos contaminados do aterro sanitário e polo industrial de Manaus pela espécies de plantas Senna multijuga, Schizolobium amazonicum e Caesalpinia echinata.** Manaus, 2008. 100 folhas. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, 2008.

CUNHA, I.; MANGAS-RAMIREZ, E.; GUILHERMINO, L. Effects of copper and cadmium on cholinesterase and glutathione S-transferase activities of two marine gastropods (*Monodonta lineata* and *Nucella lapillus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 145, p. 648–657, 2007.

DAKIKY, M.; KHAMIS, M.; MANASSRA, A.; MER'EB, M. Selective adsorption of chromium VI in industrial wastewater using low-cost abundantly available adsorbents. **Advances in Environmental Research**, v. 6, p. 533–540, 2002.

DA SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V. Biomonitoramento Ambiental, p. 167-178. In: DA SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. In: DA SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre, RS: Alcance, 2003.

DENEKE, S.M.; FANBURG, B.L. Regulation of cellular glutathione. **American Journal of Physiology**, v. 257, p.163-173, 1989.

DI IACONI, C.; ROSSETI, S.; LOPEZ, A.; RIED, A. Effective treatment of stabilized municipal landfill leachates. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 1085–1092. 2011.

DUFFUS, J.H. “Heavy metals” – a meaningless term? **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002.

EATON, D.L.; BAMMLER, T.K. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 49, p. 156–164. 1999.

EKINCI, D.; BEYDEMIR, S. Risk assessment of pesticides and fungicides for acid-base regulation and salt transport in rainbow trout tissues. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, p. 66–70. 2010.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, V.; KORICHEVA, J.; DUARTE, S.; NIYOGI, D.K; GUÉROLD, F. Effects of anthropogenic heavy metal contamination on litter decomposition in streams – A meta-analysis. **Environmental Pollution**, v. 210, p. 261-270, 2016.

FONSECA, B.; FIGUEIREDO, J.R.; QUEIROZ, R.A.; TAVARES, T. Mobility of Cr, Pb, Cd, Cu and Zn in a loamy sand soil: A comparative study. **Geoderma**, v. 164, p. 232-237, 2011.

FÖRSTNER, U; MÜLLER, G. Concentrations of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediments: geochemical background, man's influence and environmental impact. **Geojournal**, v. 5, n. 5, p. 417-432

FRIDOVICH, I. Mitochondria: are they the seat of senescence? **Aging Cell**, v. 3, p. 13–16, 2004.

GAO, Y.; SUN X.; SUN, Y.; ZHAO, N.; LI, Y. Toxic effects of enrofloxacin on growth rate and catalase activity in *Eisenia fetida*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 26, p. 177-180, 2008.

GALLEANO, M.; PUNTARULO, S. Effect of mild iron overload on liver and kidney lipid peroxidation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 27, p. 2349-2358, 1994.

GIULIO, R.T.D.; WASHBURN, P.C.; WENNING, R.J.; WINSTON, G.W.; JEWELL, C.S. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9, p. 1103-1123, 1989.

GLISIC, B.; MIHALJEVIC, I.; POPOVIC, M.; ZAJA, R.; LONCAR, J.; FENT, K.; KOVACEVIC, R.; SMITAL, T. Characterization of glutathione-S-transferases in zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 158, p. 50-62, 2015.

GOOGLE. Google Earth. Versão 7.3.0.3832. Disponível em: <<https://www.google.com/earth/download/gep/agree.html>>. Acesso em: 10 mai 2017.

HAKANSON, L. An ecological risk index for aquatic pollution control – A sedimentological approach. **Water Research**, v. 14, p. 975-1001, 1980.

HAMADA, J.; CALÇAS, D.A.N.Q.P.; GIACHETTI, H.L. Influência da compactação de um solo na infiltração e retenção de carga orgânica de chorume. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 180-186, 2004.

HAN, D.; TONG, X.; CURRELL, M.J.; CAO, G.; JIN, M.; TONG, C. Evaluation of the impact of an uncontrolled landfill on surrounding groundwater quality, Zhoukou, China. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 136, p. 24–39, 2014.

HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radical. In: STOREY, K.B. (ed.). **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**. John Wiley & Sons, p. 319–368, 2004.

HODGSON, E. Introduction to biotransformation (metabolism). In: KRIEGER, R. (Ed.), **Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology**, v. 1, p. 865–875. 2010.

HOSSAIN, M.A. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-37, 2012.

HÜBEL, M. **RPPN Serra da Farofa KLABIN.** Disponível em: <<http://marcelohubel.blogspot.com.br/2012/04/rppn-serra-da-farofa-klabin.html>> Acesso em: 11 abr 2017.

HUGGETT, R.J.; KIMERLE, R.; MEHRLE, P; BERGMAN, H. **Biomarkers: biochemical, physiological, and histological marker of antropogenic stress.** Lewis Publishers, 1992.

INSTITUTO DA POTASSA & FOSFATO. **Manual internacional da fertilidade do solo.** Tradução e adaptação de Alfredo Scheid Lopes. 2. ed. ampliada e revisada. Piracicaba: POTAPOS. 1998. 177p.

IYER, V.G.; MASTORAKIS, N.E. Unsafe Chromium and its Environmental Health Effects of Orissa Chromite Mines. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENERGY AND ENVIRONMENT TECHNOLOGIES AND EQUIPMENT, 1., 2010, Bucareste. *Anais...* Bucareste: Facultatea IMST – Universitatea Politehnica, 2010. p. 111 - 122.

JÚNIOR, M.B; MELLO, J.W.V.; SCHAEFER, C.F.G.R.; DUSSIN, T.M.; ABRAHÃO, W.A. PEREIRA. Valores de referência local e avaliação da contaminação por zinco em solos adjacentes a áreas mineradas no município de Vazante-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2883-2893, 2008.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants.** 4. ed. Boca Raton: CRC, 2011. 505 p.

KAYA, E.F.; SÖYUT, H.; BEYDEMIR, S. Carbonic anhydrase activity from the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) liver: The toxicological effects of heavy metals. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, p. 514-521, 2013.

KAZI, T.G.; JALBANI, N.; KAZI, N.; JAMALI, M.K.; ARAIN, M.B.; AFRIDI, H.I.; KANDHRO, A.; PIRZADO, Z. Evaluation of toxic metals in blood and urine samples of chronic renal failure patients, before and after dialysis. **Renal Failure**, v. 30, n. 7, p. 737–745, 2008.

KEEN, J.H.; HABIG, W.H.; JAKOBY, W.B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.

KIRPICHTCHIKOVA, T.A.; MANCEAU, A.; SPADINI, L.; PANFILI, F.; MARCUS, M.A.; JACQUET, T. Speciation and solubility of heavy metals in contaminated soil using X-ray microfluorescence, EXAFS spectroscopy, chemical extraction, and thermodynamic modeling. **Geochimica & Cosmochimica Acta**, v. 70, n. 9, p. 2163-2190, 2006.

KJELDSEN, P.; BARLAZ, S.S.; ROOKER, A.P.; BAUN, A.; LEDIN, A.; CHRISTENSEN, T. Present and long term composition of MSW landfill leachate: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 297– 336, 2002.

KLEIN, F.C.; HOEHNE, L. Determinação de chumbo em solo de uma antiga fábrica de acumuladores elétricos e proposta de remediação. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 6, n. 4, p. 66–75, 2014.

KRYCH-MADEJ, J.; GEBICKA, L. Interactions of nitrite with catalase: Enzyme activity and reaction kinetics studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 171, p. 10-17, 2017.

KUCUK, M.; GULCIN, I. Purification and characterization of the carbonic anhydrase enzyme from Black Sea trout (*Salmo trutta Labrax Coruhensis*) kidney and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 44, p. 134-139, 2016.

LEE, K.W.; RAISUDDIN, S.; RHEE, J.S.; HWANG, D.S.; YU, I.T.; LEE, Y.M.; PARK, H.G.; LEE, J.S. Expression of glutathione S-transferase (GST) genes in the marine copepod *Tigriopus japonicus* exposed to trace metals. **Aquatic Toxicology**, v. 89, p. 158–166. 2008.

LIMA, L.M.Q. **Lixo – Tratamento e Biorremediação**. 3. ed. Editora Hemus. 265 p. 2004.

LOGANATHAN, P.; VIGNESWARAN, S.; KANDASAMI, J.; NAIDU, R. Cadmium sorption and desorption in soils: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 489-533, 2012.

MAIN, W.P.L.; ROSS, C.; BIELMYER, G.K. 2010. Copper accumulation and oxidative stress in the sea anemone, *Aiptasia pallida*, after waterborne copper exposure. **Comparative Biology and Physiology, Part C**, v. 151, p. 216–221, 2010.

MARIA, V.L.; SANTOS, M.A.; BEBIANNO, M.J. Contaminant effects in shore crabs (*Carcinus maenas*) from Ria Formosa lagoon. **Comparative Biology and Physiology, Part C**, v. 150, p. 196-208, 2009.

MARQUES, R.F.P.V. **Impactos ambientais da disposição de resíduos sólidos urbanos no solo e na água superficial em três municípios de Minas Gerais**. Lavras, 2011. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas) – Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas, Universidade Federal de Lavras, 2011.

MARTÍN-DÍAZ, M.L.; BLASCO, J.; SALES, D.; DEL VALLS, T.A. Field validation of a battery of biomarkers to assess sediment quality in Spanish ports. **Environmental Pollution**, v. 151, p. 631–640, 2008.

MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Glutathione. **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, p. 711-760, 1983.

MELLIS, E.V.; RODELLA, A.A. Influência do tempo de agitação na adsorção de Cd, Cu, Ni e Zn em latossolo tratado com lodo de esgoto. **Bragantia**, v. 67, n. 4, p. 977-982, 2008.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C.W.A.; SANTOS, A.C.Q.; SILVA, A.S. Disponibilidade e fracionamento de Cd, Pb, Cu e Zn em função do pH e tempo de incubação com o solo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 776-784, 2008.

MERLINO, L.C.S.; MELO, W.J.; MACEDO, F.G.; GUEDES, A.C.T.P.; RIBEIRO, M.H.; MELO, V.P.; MELO, G.M.P. Bário, cádmio, cromo e chumbo em plantas de milho e em latossolo após onze aplicações anuais de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 2031-2039, 2010.

MORAES, C.L. **Caracterização do passivo ambiental lixão desativado do município de Lages-SC**. Lages, 2014. 160 folhas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade do Estado de Santa Catarina, 2014.

MOREIRA, D.A. **Remoção de metais pesados do percolado de aterro sanitário usando resíduos sólidos urbanos e de construção civil**. Viçosa, 2008. 95 folhas. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa. 2008.

NAGASHIMA, L.A.; JÚNIOR, C.B.; SILVA, C.A.; FUJIMURA, A.S. Avaliação dos níveis de metais pesados em efluente líquido percolado do aterro sanitário de Paranavaí, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Sectarium. Health Sciences**, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2009.

NIKOLIC, T.V.; KOJIC, D.; ORCIC, S.; BATINIC, D.; VUKASINOVIC, E.; BLAGOJEVIC, D.P.; PURAC, J. The impact of sublethal concentrations of Cu, Pb and Cd on honeybee redox status, superoxide dismutase and catalase in laboratory conditions. **Chemosphere**, v. 164, p. 98-105, 2016.

OLIVEIRA, F.J.S.; JUCÁ, J.F.T. Acúmulo de metais pesados e capacidade de impermeabilização do solo imediatamente abaixo de uma célula de um aterro de resíduos sólidos. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 211-217, 2004.

OLIVEIRA, S.; PASCAL, A. Avaliação de parâmetros indicadores de poluição por efluente líquido de um aterro sanitário. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 240-249, 2004.

PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; COSTA, E.T.; LIMA, J.M.; MARQUES, G.S.M.; FIGUEIREDO, L.F.P. Comportamento sortivo, individual e competitivo, de metais pesados em latossolos com mineralogia contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 819-826, 2007.

PLAA, G.L. Present status: toxic substances in the environment. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, p. 1010–1016. 1982.

REGOLI, F. Biochemical characterization of the antioxidant system in the scallop *Adamussium colbecki*, a sentinel organism for monitoring the Antarctic environment. **Polar Biology**, v. 17, p. 251–258. 1997.

REMACLE, J.; LAMBERT, D.; RAES, M.; PEGEOLET, E.; MICHELS, D.; TOUSSAINT, O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability: confrontation between theoretical and experimental data. **The Biochemical Journal**, v. 286, p. 41-46, 1992.

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

RIBEIRO, S.M.; QUEIROZ, J.H.; PELÚZO, M.C.G.; COSTA, N.M.B.; MATTA, S.L.P.; QUEIROZ, M.E.L.R. The formation and the effects of the reactive oxygen species in biological media. **Bioscience Journal**, v. 12, p. 133-149, 2005.

RIGUETTI, P.F.; CARDOSO, A.L.; CAVALHEIRO, A.A.; LENZI, E.; FIORUCCI, A.R.; SILVA, M.S. Manganês, zinco, cádmio, chumbo, mercúrio e crômio no chorume de aterro sanitário em Dourados, MS, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, n. 1, p. 153-163, 2015.

ROLDAN, L.F.; MACHADO, R.; SEINER, S.S.; WARREN, L.V. Análise de Lineamentos Estruturais no Domo de Lages (SC) com uso de Imagens de Satélite e Mapas de Relevo Sombreado. **Revista Geologia USP, Série Científica**, v. 10, n. 2, p. 57-72, 2010.

RONQUIM, C.C. **Conceito de fertilidade do solo e manejo adequado para regiões tropicais**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31004/1/BPD-8.pdf>> Acesso em: 20 mai. 2017.

RPPN CATARINENSE. **RPPN Complexo Serra da Farofa é a mais nova associada da RPPN Catarinense**. Disponível em: <<http://rppncatarinense.org.br/?p=1556#more-1556>> Acesso em: 12 abr 2017.

RUBINGER, C.F. **Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais**. Belo Horizonte, 2009. 89 folhas. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

SABIÁ, R.J.; SILVA, L.D.; BARROS, G.D.T.; SANTOS, Y.T.C.; JÚNIOR, F.A.V.S.; LIMA, A.F.O. Contaminação da bacia do rio Salgado por influência do chorume e possível tratamento através de biosorventes. **Caderno de Cultura e Ciência**, v. 14, n.1, p. 174-186, 2015.

SHAILAJA, M.S.; D'SILVA, C. Evaluation of impact of PAH on a tropical fish, *Oreochromis mossambicus* using multiple biomarkers. **Chemosphere**, v. 53, p. 835–841, 2003.

SHARMA, Y.C.; KAUL, S.N.; WENG, C.H. Adsorptive separation of cadmium from aqueous solutions and wastewaters by riverbed sand. **Environmental Pollution**, v. 150, p. 251-257, 2007.

SIES, H. Oxidative stress. London; Academic. 507 p. 1985.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radical Biology & Medicine**, v.27, p. 916–921, 1999.

SOLOMONS, W.; FÖRSTNER, U. **Metals in the hydrocycle**. Berlim, Springer Verlag, 1984.

STEGEMAN, J.J.; BROUWER, M.; RICHARD, T.D.G.; FÖRLIN, L.; FOWLER, B.A.; SANDERS, B.M; VAN VELD, P.A. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: HUGGETT, R.J.; KIMERLE, R.A.; MEHRLE JUNIOR., P.P.; BERGMAN, H.L. (Eds.), **Biomarkers. Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress**. Lewis, Chelsea, p. 235–335. 1992.

TAO, X.; LI, A.; YANG, H. Immobilization of metals in contaminated soils using natural polymer-based stabilizers. **Environmental Pollution**, v. 222, p. 348-355, 2017.

TCHOUNWOU, P.B. Heavy metal toxicity and the environment. In: **Experientia Supplementum**. Springer, Nova Iorque, p. 133-164. 2012.

VALAVANIDIS, A. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 178-189, 2006.

VAREDA, J. P.; VALENTE, J. M. V.; DURÃES, L. Heavy metals in Iberian soils: Removal by current adsorbents/amendments and prospective for aerogels. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 237, p. 28–42, 2016.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.

WANG, Q.; XIE, Z.; LI, F. Using ensemble models to identify and apportion heavy metal pollution sources in agricultural soils on a local scale. **Environmental Pollution**, v. 206, p. 227-235, 2015.

WON, E.J.; KIM, R.O.; RHEE, J.S.; PARK, G.S.; LEE, J.; SHIN, K.H.; LEE, Y.M.; LEE, J.S. Response of glutathione S-transferase (GST) genes to cadmium exposure in the marine pollution indicator worm, *Perinereis nuntia*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 154, p. 82-92, 2011.

YILDIRIM, N.C.; YILDIRIM, N.; DANABAS, D.; DANABAS, S. Use of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and cytochrome P450 1A1 in Capoetaumbla as biomarkers for monitoring of pollution in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, p. 1169-1176, 2014.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. Introdução de Agentes Químicos no Ambiente. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos, SP: Rima, 2006.

ZAMBROSI, F.C.B.; ALLEONI, L.R.F.; CAIRES, E.F. Teores de alumínio trocável e não trocável após calagem e gessagem em Latossolo sob sistema de plantio direto. **Bragantia**, v. 66, n. 3, p. 487-495, 2007.

ZANELLO, S. **Caracterização mineralógica e avaliação dos teores Cr, Ni, Cu, Zn e Pb dos solos do entorno do aterro sanitário da Cachimba em Curitiba (PR)**. Curitiba, 2006. 102 folhas. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná, 2006.

ZHANG, L.; QIU, L.; WU, H.; LIU, X.; YOU, L.; PEI, D.; CHEN, L.; WANG, Q.; ZHAO, J. Expression profiles of seven glutathione S-transferase (GST) genes from *Venerupis philippinarum* exposed to heavy metals and benzo[a]pyrene. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 155, p. 517-527, 2012.

ANEXOS

Anexo A – Concentrações (ppb) dos metais analisados nas amostras de solo coletadas superficialmente.

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1S	4,013	158,250	1212,567	281,933	24,343
P2S	1,374	115,333	87,230	217,567	27,057
P3S	1,057	223,533	138,950	359,800	23,610
P4S	0,419	81,937	271,050	172,400	28,343
P5S	ND	36,523	77,195	109,403	28,310
P6S	0,962	110,910	ND	35,410	53,510
P7S	3,075	783,167	294,800	1281,500	54,155
P8S	2,689	629,900	167,267	1025,667	59,347
P9S	3,347	693,800	482,133	779,567	138,713
P10S	3,845	677,133	478,533	696,733	ND
P11S	4,669	912,250	648,967	802,650	152,900
P12S	4,758	561,100	707,333	529,050	124,500
P13S	5,018	643,567	236,150	442,533	68,255
P14S	4,606	949,050	453,333	287,933	71,695
P15S	5,220	378,950	568,767	364,700	ND
P16S	5,078	276,450	265,667	242,500	108,290
P17S	5,440	154,400	283,567	336,150	75,723
P18S	4,091	244,467	187,850	233,400	62,640
P19S	2,809	563,400	273,833	247,200	88,823
P20S	3,491	707,267	413,500	228,600	105,613

Fonte: Produção do próprio autor.

Obs.: ND = Não Detectada.

Anexo B – Concentrações (ppb) dos metais analisados nas amostras de solo coletadas em profundidade.

Ponto	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
P1M	15,243	169,967	97,740	81,627	61,920
P2M	13,120	86,600	133,033	52,953	ND
P3M	20,540	241,500	149,767	43,617	21,110
P4M	17,210	208,833	1091,567	66,240	40,883
P5M	12,773	327,567	746,433	91,307	37,580
P6M	76,720	448,367	2658,667	248,367	35,427
P7M	107,093	332,100	1271,000	181,900	47,017
P8M	20,450	106,430	173,500	42,250	ND
P9M	16,750	145,940	126,467	57,287	15,442
P10M	40,723	137,633	455,900	119,200	27,345
P11M	48,557	478,233	1108,000	140,933	28,450
P12M	55,047	319,367	1232,000	157,167	25,395
P13M	60,930	311,167	2170,000	131,600	28,230
P14M	44,763	64,940	240,633	91,477	23,378
P15M	64,847	153,700	266,033	51,690	ND
P16M	16,835	121,700	115,933	51,690	62,240
P17M	42,297	314,800	898,433	109,653	ND
P18M	36,093	87,797	126,000	36,047	63,235
P19M	274,300	1823,000	7292,667	261,100	25,810
P20M	68,060	68,937	348,750	43,710	25,960
P21M*	6,217	109,820	383,133	65,823	29,860
P22M*	5,780	83,853	257,333	54,347	50,635
P23M*	6,427	73,033	235,433	55,383	58,580
P24M*	4,845	58,437	272,900	32,167	59,560
P25M*	0,495	12,670	287,300	23,700	86,537
P26M*	0,675	9,220	14,187	13,030	88,090

Fonte: Produção do próprio autor.

Obs.: ND = Não Detectada; * = amostras oriundas dos canais de drenagem de água pluvial e chorume.