Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO EM ÁREAS DE MINERAÇÃO E BENEFICIAMENTO DE OURO EM MINAS GERAIS

SUELLEN CRISTINA MOREIRA DE SALES

Belo Horizonte

2013

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE IMPACTOS DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO EM ÁREAS DE MINERAÇÃO E BENEFICIAMENTO DE OURO EM MINAS GERAIS

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre.

Orientadora: Prof[a] Dr[a] ARNOLA CECÍLIA RIETZLER

Belo Horizonte

2013

Dedico essa Tese à minha família por todo apoio em todos os momentos da minha vida, e a Leo pelo carinho e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Prof[a] Dr[a] Arnola Cecília Rietzler, pela orientação, apoio e confiança para a realização deste trabalho;

Aos Professores Prof. Dr. Francisco Barbosa e Prof[a] Dr[a] Paulina Maia Barbosa, pelo apoio logístico para as coletas de campo;

À equipe do LIMNEA, em especial a Maione e Marcelo pela ajuda na coleta e análise de nutrientes;

Ao Diego pela ajuda na análise de dados;

Ao INMET pelos dados climatológicos fornecidos;

A CAPES pela bolsa;

Ao INCT-Acqua e em particular à Prof[a] Virgínia Ciminelli e Cláudia Caldeira, pelo financiamento das análises de metais e campo;

Ao Prof. Emílio e à Guilhermina pela análise de metais;

Ao Prof. Dr. Marcos Callisto e a Juliana França pelo apoio na realização de análises granulométricas;

Ao Rodrigo pelos dados de metais em solo;

À Marcela e Lorena pelo apoio fundamental em laboratório e realização de testes de sensibilidade;

Ao Leo, não só pelo carinho e compreensão, mas também pela ajuda em programas de estatística;

Finalmente, aos meus pais, Sônia e Francisco e minha irmã Sanny pelo apoio, carinho, compreensão e paciência não só durante essa etapa, mas em todos os momentos de minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	11
ABSTRACT	13
RESUMO	15
APRESENTAÇÃO	17
CAPÍTULO 1 – A ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA NA AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO EM ÁREAS DE MINERAÇÃO	19
ABSTRACT	19
RESUMO	20
1. Introdução	21
2. O paradoxo da mineração	22
3. Ecotoxicologia como ferramenta ecológica	24
4. Abordagem ecotoxicológica na avaliação de impactos em áreas de mineração	28
5. Ecotoxicologia como base para avaliação de risco em áreas de mineração	32
6. Desafios e perspectivas da abordagem ecotoxicológica	33
7. Considerações finais	38
8. Referências	39
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE TOXICIDADE DE ARSÊNIO ISOLADO E ASSOCIADO A FERRO	50
ABSTRACT	50
RESUMO	51
1. Introdução	52
2. Materiais e métodos	55
2.1. Cultivo de organismos-teste e avaliação de sensibilidade	55
2.2. Preparo das soluções teste de As e Fe	55
2.3. Determinação das concentrações de teste	56
2.4. Testes de toxicidade com As e Fe	56
2.5. Comparação dos valores de CE50 obtidos	58
3. Resultados	58
4. Discussão	63
5. Conclusões	67

6. Referências 75
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ÁGUA E SEDIMENTO EM UMA ÁREA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO 77
ABSTRACT 77
RESUMO 78
1. Introdução 79
2. Materiais e métodos 80
2.1. Área de estudo 80
2.2. Coleta de amostras e determinação de parâmetros físicos e químicos 82
2.3. Parâmetros Ecotoxicológicos 84
2.4. Análise de dados utilizando ferramentas de avaliação de risco ecológico 85
3. Resultados 87
4. Discussão 98
5. Conclusões 104
6. Referências Bibliográficas 106
7. Material Suplementar 112
CAPÍTULO 4 – ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE OURO 114
ABSTRACT 114
RESUMO 115
1. Introdução 116
2. Materiais e métodos 117
2.1. Área de estudo 117
2.2. Coleta de amostras e parâmetros físicos e químicos 118
2.3. Parâmetros Ecotoxicológicos 120
2.4. Análise de dados 121
3. Resultados 124
4. Discussão 134
5. Conclusões 140
6. Referências 141
7. Material suplementar 148
CONSIDERAÇÕES FINAIS 150

ANEXOS 152
Cultivo de organismos-teste 153
Testes de sensibilidade 153

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1- Porcentagem de imobilidade de *D. similis* e *C. silvestrii* para As III e V. 59

Figura 2- Carta-controle de CE50 para *D. similis* e *C. silvetrii* utilizando arsênio nas formas III e V. 60

Figura 3- Porcentagem de imobilidade de *D. similis* e *C. silvestrii* para As V na presença de Fe nas concentrações 0,02, 0,2 e 2,0 $mg.L^{-1}$ (C: controle laboratório; CFe: controle com ferro). 60

Figura 4- Total de neonatas nos testes de toxicidade crônica com arsênio V. 62

Figura 5- Variação no crescimento de *C. silvestrii* ao longo de sete dias (a) e das neonatas mantidas na solução de arsênio (b) e em água de cultivo (c). À esquerda, teste 1 e à direita, teste 2. 63

CAPÍTULO 3

Figura 1: Localização da bacia do rio das Velhas destacando a área de estudo 81

Figura 2- Dados de precipitação (total mensal) e temperatura (média, máxima e mínima) da área de estudo de janeiro de 2009 a dezembro de 2012. 88

Figura 3- Análise de componentes principais dos córregos Mutuca (V1) e da Mina (V2) destacando os períodos chuvoso (C) e seco (S). 88

Figura 4- Granulometria do sedimento do córrego da Mina e do córrego Mutuca (AMG: Areia muito grossa; AG: Areia grossa; AM: Areia média; AF: Areia fina; AMF: Areia muito fina; S: Silte). 90

Figura 5- Ensaios ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do córrego da Mina (barras escuras) e do córrego Mutuca (barras claras). O símbolo * indica efeito crônico e ^{TA} indica efeito agudo (NR: Não conduzidos bioensaios com amostras do Mutuca). 95

Figura 6- Frequência de Qualidade Ambiental considerando as linhas de evidência ecotoxicológica dos córregos da Mina e Mutuca (ETC: Ensaio de Toxicidade Crônica) e biológica (CT: Coliformes Termotolerantes – Fonte de dados: IGAM). ETC * refere-se aos bioensaios conduzidos pelo IGAM em seu monitoramento anual. 96

Figura 7- Frequência de Qualidade Ambiental de metais em água no período chuvoso e seco nos córregos da Mina e Mutuca (*Frequências obtidas a partir 97

de dados fornecidos pelo IGAM; d: metal dissolvido).
Figura 8- Frequência de Qualidade Ambiental de metais em sedimento no período chuvoso e seco (*Limite de detecção <0,05; ** Concentrações detectadas em apenas duas amostras). 98
Figura 9- Frequência de Qualidade Ambiental de nutrientes dos córregos da Mina e Mutuca e de sulfatos, cloretos, clorofila a (Cfa), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e selênio do córrego da Mina no período chuvoso e seco (*Parâmetros cujos dados foram fornecidos pelo IGAM). 98
MATERIAL SUPLEMENTAR
Figura 7.1- Imagem do Córrego da Mina e da bacia de contenção cujo efluente é lançado no córrego. 112
Figura 7.2- Bacia de contenção da planta de beneficiamento de ouro (à esquerda) e córrego da Mina (à direita). Foto: Maione W Franco. 112
Figura 7.3-Imagem da área de captação de água no córrego Mutuca. 113
Figura 7.4- Área de captação de água no córrego Mutuca. Foto: Maione W Franco. 113
CAPÍTULO 4
Figura 1: Localização da bacia do rio Doce destacando a área de estudo 117
Figura 2- Total de neonatas produzidas durante os ensaios de toxicidade crônica (TA: amostras que apresentaram toxicidade aguda; * efeito de toxicidade crônica). 129
Figura 3- Frações granulométricas dos três pontos estudados. 129
Figura 4- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de água para metais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* nos três pontos amostrados considerando todo o período de estudo. 130
Figura 5- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de sedimento para metais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Ceriodaphnia silvestrii* e *Chironomus xanthus* nos três pontos amostrados, considerando todo o período de estudo. 131
Figura 6- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de solo para metais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Eisenia andrei* nos três pontos amostrados considerando todo o período de estudo (Obs: Dados de 132

metais fornecidos por Alves (dados não publicados) e dados ecotoxicológicos obtidos de Alves e Rietzler (2013).
Figura 6- Contaminação por metais em água, sedimento e solo considerando a média simples das RTMs nos três pontos de estudo no período seco (10/9/11 e 24/9/11) e chuvoso (17/11/11 e 1/12/11). 133
Figura 8- Contaminação por metais em água, sedimento e solo considerando a soma do produto das RTMs com seu respectivo peso nos três pontos de estudo no período seco (10/9/11 e 24/9/11) e chuvoso (17/11/11 e 1/12/11). 134
MATERIAL SUPLEMENTAR
Figura 7,1: Área de estudo. Região de Brumal destacando local dos pontos amostrados (P1, P2 e P3). A descrição dos pontos se encontra na Tabela 1. 148
Figura 7.2: Córrego referente à P1, localizado dentro de uma propriedade rural, sendo a água utilizada na irrigação. Foto: Maione W. Franco. 148
Figura 7.3: Córrego referente a P2, localizado em uma propriedade particular no município de Brumal, MG. Foto: Maione W. Franco. 148
Figura: 7.4: Córrego referente a P3 (à esquerda), localizado abaixo de uma bacia de contenção (à direita). Foto: Arquivos pessoais (à esquerda) e Maione W. Franco (à direita). 149
Figura 7.5: Valores de RTMs de arsênio e metais em água (linha azul), sedimento (linha marrom) e solo (linha verde) nos três pontos amostrados. A análise contempla períodos secos (10/9/2011 e 24/9/2011) e períodos chuvosos (17/11/2011 e 1/12/2011). Os dados que subsidiaram a produção das RTMs de solo foram fornecidos por Alves (dados não publicados). 149
ANEXOS
Figura 1: Carta-controle dos organismos-teste utilizados no estudo. 155
Figura 2: Esquema de testes de toxicidade aguda (acima) e crônica (abaixo) conduzidos com soluções de sais de arsênio. 156
Figura 3: Esquema de ensaios de toxicidade aguda e crônica conduzidos com amostras ambientais de água e sedimento. 157
Figura 4: Esquema dos critérios utilizados para condução de ensaios de toxicidade com as amostras ambientais de água e sedimento 158

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1- Desafios apresentados por Breitholt *et al* (2006) para aperfeiçoar o uso de testes de toxicidade em avaliação de risco ecológico. 36

CAPÍTULO 2

Tabela 1- Valores médios de CE50 ($mg.L^{-1}$) para *C. silvestrii* e *D. similis* utilizando As III e V isolados e As V na presença de Fe. 61

Tabela 2 – Parâmetros H e Z calculados através das médias de CE50-48h de As III e As V e As V associado a Fe obtidas para *D. similis* e *C. silvestrii* 61

Tabela 3- Média de neonatas por concentração e CI25 de As ($mg.L^{-1}$). 62

CAPÍTULO 3

Tabela 1- Localização e descrição da área de estudo. 81

Tabela 2- Parâmetros físicos e químicos avaliados com suas respectivas unidades e metodologia. 83

Tabela 3- Critérios de qualidade ambiental para as linhas de evidência química, biológica e ecotoxicológica (adaptado de Tallini *et al*., 2012). 87

Tabela 4 - Valores médios, máximos e mínimos dos parâmetros físicos e químicos dos córregos da Mina e Mutuca, nos períodos de seca e chuva de 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação. 91

Tabela 5- Valores médios, máximos e mínimos de nutrientes dos córregos da Mina e Mutuca nos períodos de seca e chuva de 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação. 92

Tabela 6- Valores médios, máximos e mínimos de metais totais e dissolvidos (entre parênteses) na água ($mg.L^{-1}$) nos córregos da Mina e Mutuca nos dois períodos de estudo em 2010 e 2011, e limites estabelecido pela legislação para as diferentes classes. 93

Tabela 7- Valores médios, máximos e mínimos de metais biodisponíveis no sedimento ($mg.Kg^{-1}$) nos córregos da Mina e Mutuca nos dois períodos de estudo em 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação para os níveis 1 e 2. 94

CAPÍTULO 4

Tabela 1- Descrição e localização dos pontos amostrados. 118

Tabela 2- Parâmetros avaliados com suas respectivas metodologias. 119

Tabela 3- Critérios de qualidade ambiental para as linhas de evidência química e ecotoxicológica (adaptado de Tallini *et al*., 2012). 122

Tabela 4- Parâmetros físicos e químicos determinados para P1, P2 e P3, nos períodos secos e chuvosos. 126

Tabela 5- Concentração média de metais totais na água nos períodos de seca e chuva nos três pontos amostrados e valores estabelecidos pela legislação. 127

Tabela 6- Concentração média de metais biodisponíveis em sedimento nos períodos de seca e chuva nos três pontos amostrados e valores estabelecidos pela legislação. 128

Tabela 7- Peso obtido para cada metal nos diferentes compartimentos ambientais avaliados. 133

ABSTRACT

Mining is one of the most important activities for economic profits although among the ones causing more environmental impacts. The effects either in extraction areas or in processing and production areas cause several contaminants release, mainly metals, polluting water, sediment and soil, reducing environment quality and resulting in risk for human health. Gold is the most valued and profitable precious metal and its extraction cause the most severe environmental impacts, showing a strong correlation with acid drainage and arsenic release. Arsenic presents different valences in the environment and is very toxic to biota. This study is part of a series of researches developed in areas influenced by extractions and processing gold mining activities funded by Science and Technology National Institute (INCT-ACQUA). It aimed to evaluate ecotoxicological approaches in water and sediment of these areas. In addition, where arsenic release had correlation with a gold mine, we tried to evaluate the arsenic toxicity potential alone and associated with iron, a common metal in areas of the present studies, used for coagulation of severe metals in remediation actions. Toxicity bioassays and tests were conducted with *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* and *Chironomus xanthus* according to specific standards. For evaluation of the processing and extraction gold mining areas, physical and chemical parameters including pH, dissolved oxygen, electric conductivity, dissolved solids, hardness, alkalinity and metals were determined. The results showed CE50 e CI25 for cladocerans, higher than legislation values. However, CE50 was reduced to half when arsenic was associated with iron at 0,02 $mg.L^{-1}$. The study areas influenced by gold processing activity (Mina Stream and Mutuca Stream) and by gold extraction activity (P1, P2 e P3), showed high metals and arsenic contamination in water and sediment. These results were corroborated by the toxicity bioassays. Thus, the consistency between ecotoxicological tools and chemical data emphasized the importance of

the ecotoxicological approach. Although in the second area, the mining activity had been deactivated for five years, toxicity effects in sediment and soil were higher than in the first area. Considering the proximity of both sites to local populations and streams, ecological risk assessment and mitigation actions are fundamental to ensure environmental and human health in those areas.

Keywords: Gold mining, metals and arsenic contamination, water and sediment toxicity, ecological risk assessment.

RESUMO

A atividade de mineração está entre as mais importantes economicamente e as que provocam as mudanças mais drásticas no ambiente. Os efeitos de tais atividades, tanto nas áreas de extração quanto nas áreas de beneficiamento e processamento do minério ocorre a liberação de inúmeros contaminantes, principalmente metais, contaminando água, sedimento e solo, provocando redução da qualidade ambiental e risco à saúde humana. O ouro é o metal mais valorizado e rentável existente, e sua extração provoca os mais severos impactos ao ambiente, estando fortemente relacionado à presença de drenagens ácidas e liberação de arsênio. O ametal arsênio pode estar presente no ambiente em diferentes formas químicas, sendo a maioria extremamente tóxica à biota. O presente trabalho faz parte de uma série de estudos desenvolvidos em áreas de mineração e beneficiamento de ouro pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Acqua (INCT-ACQUA) e teve como objetivo avaliar sob o ponto de vista ecotoxicológico, a qualidade de água e sedimento de áreas influenciadas por essa atividade. Além disso, considerando que a liberação de arsênio está diretamente relacionada à mineração de ouro, procurou-se avaliar o potencial de toxicidade desse ametal em água isolado e associado a ferro, uma vez que esse metal é muito comum na região estudada e também utilizado em processos de remediação como agente coagulante de diversos metais. Para tanto, foram conduzidos ensaios e testes de toxicidade utilizando como organismos-teste *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* e *Chironomus xanthus*, seguindo normas específicas. Na avaliação das áreas influenciadas por atividades de beneficiamento e extração de ouro foram determinados metais e parâmetros físicos e químicos, como pH, oxigênio dissolvido, condutividade, turbidez, sólidos dissolvidos, dureza, alcalinidade e nutrientes. Os resultados dos testes de toxicidade com arsênio demonstraram valores de CE50 e CI25 para as espécies de cladóceros, acima do limite da legislação brasileira. Contudo essa CE50 fica reduzida a metade quando arsênio está associado a ferro em concentrações de 0,02 $mg.L^{-1}$. As áreas

estudadas, a primeira influenciada pela atividade de beneficiamento (Córrego da Mina e Córrego Mutuca) e a segunda pela extração de ouro (córregos denominados P1, P2 e P3), apresentaram elevada contaminação por metais e arsênio tanto na água quanto no sedimento sendo esses resultados corroborados pelos ensaios de toxicidade. Embora a atividade de extração de ouro da segunda área tenha ficado desativada por cinco anos, os efeitos de toxicidade observados em amostras de sedimento e solo foram mais severos quando comparado à primeira área. Considerando que a população local está proximamente relacionada aos córregos estudados, uma avaliação de risco e promoção de medidas de mitigação dos impactos é de suma importância para garantir a saúde ambiental e humana. As ferramentas ecotoxicológicas utilizadas foram coerentes com os resultados obtidos pela análise química, demonstrando a importância do uso dessa abordagem.

Palavras-chave: mineração de ouro, toxicidade de metais e arsênio, avaliação de risco ecológico.

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido em conjunto com projetos integrantes do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – INCT-Acqua: Recursos Minerais, Água e Biodiversidade, visando desde o monitoramento, diagnóstico da qualidade e valoração da água em áreas de mineração para utilização pública e industrial até a proposição e utilização de metodologias inovadoras nas áreas minero-ambiental e conservação da biodiversidade aquática, além da promoção de ações de Educação ambiental com as comunidades envolvidas. Considerando que o estado de Minas Gerais possui forte potencial minerário, o presente trabalho procurou contribuir para a avaliação da qualidade dos ambientes aquáticos em importantes regiões de mineração do quadrilátero ferrífero, contemplando duas importantes bacias hidrográficas, a bacia do rio São Francisco, na sub-bacia do rio das Velhas e a bacia do rio Doce. A escolha de áreas de mineração de ouro considerou a necessidade de avaliação de impactos promovidos pela liberação de arsênio decorrente de tais atividades, uma vez que esse ametal é considerado extremamente tóxico e diferentes metodologias tem sido propostas para promover sua imobilização no ambiente. Dessa forma, o presente estudo buscou realizar um diagnóstico da qualidade da água em áreas influenciadas pela mineração considerando também a saúde dos sedimentos e seu potencial como fonte contaminante. Além disso, procurou-se avaliar o potencial tóxico de arsênio inorgânico, comumente encontrado em águas naturais, em águas com diferentes concentrações de ferro, metal abundante em Minas Gerais. A presente tese está dividida em quatro capítulos em formato de artigos. No capítulo 1, foi realizada uma discussão sobre a importância da abordagem ecotoxicológica na avaliação de áreas de mineração, buscando apontar os desafios e perspectivas na área. O capítulo 2 aborda o potencial de toxicidade de arsênio nas formas inorgânicas (III e V) isoladas e da forma pentavalente, que é comumente encontrada em águas superficiais, também associada ao ferro.

Os capítulos 3 e 4 referem-se a estudos de caso de duas áreas influenciadas por atividades de mineração de ouro. No capitulo 3, avaliou-se efeitos de uma área de beneficiamento de ouro sobre um córrego que recebe efluentes diretamente de sua bacia de contenção e outro córrego próximo utilizado para abastecimento da população local. No capítulo 4, a área de estudo incluiu três pontos amostrais, influenciados de formas diferentes pela atividade de extração de ouro, sendo o primeiro uma nascente, localizada próxima a uma bacia de contenção e utilizada para irrigação, o segundo que recebe efluentes da atividade de mineração e o terceiro constituído da descarga de uma bacia de contenção. Ao final, encontram-se os anexos, onde estão disponíveis a Carta-Controle do laboratório, a descrição dos procedimentos de cultivo dos organismos-teste e esquemas dos ensaios e testes de toxicidade conduzidos.

CAPÍTULO 1 – A ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA NA AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO EM ÁREAS DE MINERAÇÃO

ABSTRACT

In mining areas, chemical assessment and biological characterization are the most common approaches used for environment impact evaluation and monitoring. However, in such areas there is a mixture of contaminants, mainly metals, where the use of ecotoxicological tools can be highly relevant, because it takes into account the metals mixture toxicity and the presence and effects of metals on biota. In this context, ecological risk assessment can be an important tool for prevention and mitigation of environmental impacts, since it encompasses chemical, biological and ecotoxicological aspects. The present study discusses on the importance of the ecotoxicological approach in mining areas, considering its challenges and perspectives.

Keywords: mining activities, metal contamination, toxicity bioassays, ecological risk assessment.

RESUMO

Em áreas de mineração, a caracterização química e biológica é a abordagem mais utilizada para monitoramento e avaliação de impactos ambientais. Contudo, nestas áreas, onde existe uma mistura de contaminantes, principalmente metais, o uso de ferramentas ecotoxicológicas pode ser altamente relevante, pois considera a toxicidade da mistura de metais e os efeitos deles sobre a biota. Neste contexto, avaliação ecológica de risco pode ser uma ferramenta importante na prevenção e mitigação de impactos ambientais, desde que envolvam aspectos químicos, biológicos e ecotoxicológicos. O presente estudo discute a importância da abordagem ecotoxicológica em áreas de mineração, considerando seus desafios e perspectivas.

Keywords: atividades de mineração, contaminação de metais, bioensaios de toxicidade, avaliação ecológica de risco.

1. Introdução

A humanidade avança cada vez mais tecnologicamente. Contudo, acompanhando esse desenvolvimento, estão os distúrbios ambientais decorrentes de inúmeras atividades exploratórias. A concentração de contaminantes no solo, ar e água tem aumentado em intensidade e diversidade, sendo inúmeros os tipos de contaminantes formados a cada dia incluindo aqueles com potencial de bioacumulação e biomagnificação (Foth, 1999).

Esse problema se agrava considerando que no ambiente está presente uma miscelânea de substâncias tóxicas em diferentes concentrações, impossibilitando a detecção do grau de periculosidade devido ao desconhecimento sobre os efeitos sinérgicos e antagônicos entre os diferentes contaminantes e, dessa forma, a promoção de ações eficazes de remediação (Levengood & Beasley, 2007).

Diversos poluentes tem caráter volátil, o que torna sua dispersão mais abrangente. Por outro lado, muitos contaminantes são liberados diretamente em ambientes aquáticos, não levando em consideração a interação entre os componentes das misturas formadas (Bright *et al*,1994). Além disso, fatores físicos, químicos e biológicos podem alterar a constituição desses contaminantes e potencializar ou reduzir sua toxicidade (Anawar, 2013).

Dentre as atividades antrópicas, a mineração é a que ou uma das que mais afetam o ambiente, gerando impactos sociais, econômicos e ambientais (Durand, 2012; Suopajärvi, 2013). Tanto a extração quanto o beneficiamento são responsáveis pela liberação de elevada quantidade de metais entre outros contaminantes, provocando redução da qualidade ambiental de água, sedimento e solo (Sarmiento *et al,* 2011), comprometendo áreas muito distantes da cava de mina, mesmo após seu fechamento (Alvarenga *et al.*,2012).

Nesse contexto, a realização sistemática da avaliação de risco ecológico em áreas influenciadas pela mineração é fundamental para promover ações que visem a prevenção e mitigação de impactos dos ecossistemas. Essa avaliação deve considerar não apenas a

presença de contaminantes, mas o efeito provocado nos organismos existentes. Dessa forma, a utilização de uma abordagem ecotoxicológica tem grande relevância na análise de risco ambiental. Contudo, muitas vezes, o papel da Ecotoxicologia fica relegado a segundo plano em detrimento de análises puramente químicas ou caracterização da biota local.

Assim, este trabalho teve como objetivo discutir a importância, os desafios e perspectivas da Ecotoxicologia em áreas de mineração, incluindo diferentes estudos dentro da temática de avaliação de risco ecológico e mineração.

2. O paradoxo da mineração

A mineração, embora seja uma importante atividade econômica, é uma das principais causas de degradação ambiental, pois está associada à modificação de extensas áreas e contaminação aguda e crônica por diversos poluentes, principalmente metais. Durán *et al* (2013), avaliando minas de Al, Fe, Zn e Cu, observaram que em quase 7% ocorre sobreposição com áreas de proteção ambiental (APA) e em mais de 27 % as minas ocupam cerca de 10 km de APA. Collins *et al* (2013) ressaltam que a mineração no fundo do mar, uma nova tendência da exploração minerária, pode trazer consequências incalculáveis, já que o conhecimento acerca desses ecossistemas ainda é bastante limitado.

A mineração de metais e minerais está associada a grandes impactos ambientais, não somente no processo de extração do minério, mas durante os processos de remoção do elemento de interesse que leva a liberação de produtos tóxicos (Levengood & Beasley, 2007). A exposição de rochas, principalmente piritas, leva a processos oxidativos que liberam sulfetos que por sua vez, formam ácido sulfúrico, responsável pela lixiviação de arsênio e metais, antes retidos nas rochas, contaminando água e solo (Sarmiento *et al*, 2011), mesmo após cessada a exploração, como observado por Alvarenga *et al.* (2012) em uma mina desativada em Portugal.

A drenagem ácida, comum principalmente em minerações de ouro, associada a lixiviação de metais para ambientes aquáticos contamina não só as águas como também os sedimentos, que por sua vez atuam como fontes de recontaminação (Sarmiento *et al,* 2011). Wang *et al.* (2009) verificaram que as amostras de sedimentos de dois rios chineses apresentavam toxicidade aguda a diferentes organismos devido a presença de metais pesados e baixo pH decorrente de descargas ácidas descontroladas. Segundo Durand (2012), a drenagem ácida em uma mina de ouro na África do Sul é o principal fator responsável pela contaminação da água por sulfatos e metais, colocando a população do entorno em alto risco.

Além disso, as mudanças climáticas globais podem potencializar o impacto de drenagem ácida em ambientes aquáticos. O aumento da temperatura eleva o metabolismo de bactérias heterotróficas tornando o ambiente aquoso anóxico e redutor, situação que promove a liberação de metais e arsênio. Esse problema se agrava em regiões áridas, pois, a redução de precipitações leva a aumento da concentração de diversos contaminantes (Anawar, 2013).

Em áreas de mineração ou beneficiamento de ouro é muito comum que os excedentes das fundições, em geral constituídos por um minério mais pobre, sejam depositados sobre o solo em pilhas de rejeitos, por conseguinte, contaminando o solo (Foth, 1999). Além disso, a mineração de ouro requer grandes extrações de minério, sendo aproximadamente 15 toneladas para obtenção de um kilo do metal, o que gera um impacto muito maior comparado a outros metais (Swart & Dewulf, 2013).

A atividade mineradora tem impacto econômico, social e ambiental. Contudo, o peso de cada um desses aspectos deve ser avaliado com cautela. O rebaixamento das minas e a abrangência de sua expansão pode ser avaliada através de modelos preditivos (Song *et al.,* 2012) associados à avaliações de risco (Niemeyer *et al.,* 2010) e ferramentas do Sistema de Informação Geográfica (Menegaki & Kaliampakos, 2012).

Para Sonter *et al* (2013), uma alternativa para o desenvolvimento de medidas de mitigação ou restauração ambiental seria o investimento em conjunto pelas empresas mineradoras que possuam áreas de explorações adjacentes. Segundo Giurco e Cooper (2012), a análise através da Paisagem de Recursos Minerais (*Mineral Resources Landscape*) abrange a produção, o consumo e a reciclagem dentro dos domínios social, ecológico, econômico, tecnológico e governamental, o que permitiria aos tomadores de decisão escolher metodologias de exploração mais adequadas ao conceito de sustentabilidade mineral.

Swart e Dewulf (2013) sugerem ainda que a quantificação do impacto seja baseada no aumento anual de massa de minério requerida por unidade de massa do metal presente no minério, enquanto Suopajärvi (2013) discute que mais ênfase deveria ser dada ao estudo de impacto social, que é parte do estudo de impacto ambiental, considerando as especificidades da comunidade que será afetada diretamente pelo empreendimento.

3. Ecotoxicologia como ferramenta ecológica

A Ecologia é uma ciência relacionada ao estudo dos organismos, suas interações em seu ambiente e suas necessidades energéticas. Nesse sentido, o conhecimento dos ciclos biogeoquímicos é fundamental para a compreensão da dinâmica da comunidade. As atividades antrópicas podem modificar fortemente o equilíbrio dos sistemas ambientais, através da liberação de contaminantes antes estocados, ou mesmo aumento de macronutrientes, alterando os ciclos reprodutivos e energéticos de um ambiente (Foth, 1999). Dessa forma, é fundamental que se conheça os mecanismos pelos quais a adição de substâncias no meio afeta as comunidades biológicas.

Os organismos de uma comunidade estão interligados por seus diferentes papéis metabólicos no ambiente. Alguns fatores físicos e químicos tem papel chave na estabilidade e sustentabilidade desses processos, como pH, oxigênio dissolvido e disponibilidade de

nutrientes (Foth, op.cit). Contudo, a avaliação do equilíbrio do ambiente apenas por esses fatores chave, não seria realista, visto que inúmeros parâmetros podem influenciar no metabolismo dos indivíduos.

As atividades antrópicas liberam uma infinidade de contaminantes que podem se dispersar pelo ar, pela água ou pela cadeia alimentar (Levengood & Beasley, 2007). Dentre os inúmeros contaminantes, estão presentes os metais e os ametais, que sendo essenciais, ou não, em excesso geram efeito tóxico aos organismos. Quando liberados em rios, os metais podem se dispersar rapidamente atingindo grandes distâncias e potencializando a contaminação (Bright *et al*.,1994).

Os metais são elementos eletropositivos, formando cátions em solução. Os metais essenciais, como zinco e ferro, causam efeitos de toxicidade em geral, quando em elevadas concentrações, enquanto os metais sem função biológica, como chumbo, mercúrio e cádmio, geram efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações (Levengood & Beasley, 2007).

Entre os ametais, destacam-se o arsênio, considerado extremamente tóxico no ambiente (Jain & Ali, 2000; Hall, 2002; McCintock *et al.,* 2012) e o selênio, um ametal essencial em pequenas doses, mas tóxico, quando em elevadas concentrações (Wu, 2004). A forma química desses elementos também influencia sua toxicidade, como exemplo, o arsênio, que em geral é mais tóxico na sua forma trivalente que na forma pentavalente e mais tóxico nas formas inorgânicas que nas formas orgânicas (Styblo *et al.,* 2000; Zhang *et al.,* 2013).

A poluição terrestre pode ser decorrente de deposição deliberada de contaminantes no ambiente como no caso da formação de pilhas de rejeitos de minério, ou pela deposição de contaminantes transportados pelo ar como no caso de inseticidas aplicados no combate a uma praga.

A poluição aquática é decorrente principalmente da descarga de efluentes domésticos e industriais, constituindo também fatores de contaminação a deposição aérea e o escoamento

de água de chuva, contaminada principalmente com metais e pesticidas, da área de entorno. (Foth, 1999). Toujaguez *et al.,* (2013) verificaram que eventos como tempestades estavam entre as principais causas de contaminação de ambientes aquáticos próximos a uma mina de ouro abandonada. Por outro lado, Pawels *et al* (2013) observaram que a liberação de arsênio subterrâneo era decorrente da presença de substâncias nitrogenadas utilizadas na agricultura. Considerando que a maior parte dos ambientes (70%) é representada pelos ambientes aquáticos, as medidas de proteção desses ecossistemas devem ser prioritárias.

Paradoxalmente à liberação de contaminantes, a própria interação entre as diferentes substâncias podem provocar efeitos diferentes das substâncias isoladas. Como exemplos podemos considerar o efeito sinérgico entre os metais cobre e chumbo (Cooper *et al,* 2009), ou entre o ametal arsênio e o metal ferro (capítulo 2), assim como a redução da toxicidade de metais devido a complexação à matéria orgânica oriunda de efluentes domésticos (Al-Reasi *et al,* 2013), ou aos íons Ca^{+2} e Mg^{+2} (Deleebeeck *et al,* 2007; Schwartz & Vigneault, 2007; Clifford & Mc Geer, 2009; Park *et al.*, 2009).

Outras interações podem ser mais complexas, e difíceis de se avaliar o risco, como a interação entre cádmio e chumbo que apresenta efeito sinérgico quando o cádmio está em concentração mais elevada que chumbo e efeito antagônico quando o oposto é observado para *Eisenia fetida* (Wu *et al,* 2012). Além disso, alguns contaminantes como metais podem apresentar efeito de hormese, o que dificultaria a avaliação por uma simples análise química (Chapman, 2002).

Nesse contexto, surge a Ecotoxicologia como uma ciência capaz de avaliar impactos e riscos associados à exposição do organismo, das populações e da comunidade aos diferentes contaminantes ambientais, pois considera os efeitos adversos mediados bioquimicamente de todas as substâncias químicas sobre a biota. (Levengood & Beasley, 2007).

A avaliação ecotoxicológica é realizada por meio de exposição dos organismos aos contaminantes de interesse ou amostras ambientais, por meio de ensaios e testes de toxicidade, que podem avaliar a toxicidade aguda (curto prazo) ou crônica (médio e longo prazo), pela avaliação de biomarcadores específicos para determinados contaminantes e pela avaliação de bioacumulação de poluentes nos indivíduos (Ratte *et al.*, 2003).

A abordagem ecotoxicológica leva em consideração, aspectos como reprodução, crescimento e sobrevivência dos organismos-teste que devem ser representativos do ambiente avaliado, incluíndo bactérias, algas, cladóceros, quironomídeos, peixes entre outros (Foth, 1999; Ratte *et al.*, 2003; Zagatto, 2008). Dessa forma, a abordagem ecotoxicológica consegue avaliar os efeitos sinérgicos e antagônicos dos contaminantes no ambiente.

Um dos maiores problemas relacionados à degradação ambiental, é a liberação de um número cada vez maior de contaminantes químicos artificiais ou produzidos por atividades antrópicas gerando alterações nas comunidades de bactérias, algas, fungos, plantas e animais. A escolha pelo uso de determinadas substâncias pode ser realizada considerando ensaios de toxicidade, o que gera redução de risco de liberação de substâncias tóxicas. Como exemplo, pode ser citada a substituição de chumbo por ferro na confecção de balas utilizadas em armas de caça (Levengood & Beasley, 2007).

Além disso, a partir de resultados de testes de toxicidade com diferentes organismos, é possível construir a curva de distribuição de espécies sensíveis (SSD) para os diferentes contaminantes ou avaliar a tolerância de comunidades induzidas por poluentes (PICT), conduzindo-se testes com organismos pré-expostos ao contaminante (naturalmente ou artificialmente) e organismos- controle (Smittch-Jansen *et al,* 2008). Assim, a Ecotoxicologia constitui uma importante ferramenta ecológica atuando no monitoramento e prevenção de riscos aos ecossistemas.

4. Abordagem ecotoxicológica na avaliação de impactos em áreas de mineração

A Ecotoxicologia tem sido cada vez mais relevante na avaliação de áreas impactadas pela atividade de mineração, complementando análises físicas, químicas e biológicas. Diversos pesquisadores tem se dedicado a avaliação dos efeitos da contaminação oriunda de atividades mineradoras, sob o ponto de vista ecotoxicológico (Antunes, *et al.*, 2008; Brix *et al.*, 2010; Antunes *et al.*, 2011; Rozon-Ramilo *et al.*, 2011; Sarmiento *et al.*, 2011; Alvarenga *et al.*, 2012; Lourenço *et al.*, 2012; Ouellet *et al*, 2012; Antunes, *et al.*, 2013; Harford *et al.*, 2013; Lourenço *et al.*, 2013; Marques *et al*, 2013; Oberholster *et al*, 2013; Skipperud *et al.*, 2013; Ternej *et al.*, 2013), ainda que o número de trabalhos relacionados a análises puramente químicas superem aqueles embasados pela abordagem ecotoxicológica.

Estudos com esta abordagem permitem avaliar as possíveis interações entre os contaminantes, mas principalmente metais. Dentre estes estudos, Ouellet *et al* (2013) verificaram redução de toxicidade e acumulação de metais em peixes expostos a efluentes de mina, com o aumento do recurso alimentar.

Antunes *et al*, (2013) mostraram que a análise por meio da abordagem ecotoxicológica oferecia consistência maior sobre o impacto no ambiente que a avaliação da diversidade da fauna edáfica de uma mina de urânio abandonada. Para Alvarenga *et al* (2012), a utilização de bioensaios é fundamental na avaliação de impactos de áreas de mineração. Esses mesmos autores verificaram que o solo de uma mina em Portugal apresentou maior toxicidade considerando aspectos ecotoxicológicos de bioensaios com *Eisenia fétida* (Annelida: Oligocheta) que a simples determinação de metais.

Antunes *et al* (2008) observaram efeito de toxicidade a *Eisenia andrei* (Annelida: Oligocheta) expostas a solos oriundos de uma mina de urânio em Cunha Baixa, Portugal, contrastando com solos coletados de áreas distantes da área de mineração. Oberholster *et al.* (2013) desenvolveram ferramentas de triagem ecotoxicológica na identificação de córregos,

influenciados por drenagem ácida de mina, que seriam prioritários para restauração. Também em relação à análise de solos e sedimentos, os bioensaios que consideram respostas relacionadas ao comportamento de oligoquetos tem se mostrado bastante eficientes em complementação aos bioensaios de toxicidade aguda ou crônica. Sardo & Soares (2010), observaram redução significativa na locomoção e movimentação peristáltica de *Lumbriculus variegatus* (Annelida: Oligocheta) expostas a sedimentos oriundos de área de mineração, corroborando os bioensaios.

Além disso, o uso de mesocosmos tem sido importante na avaliação de áreas de mineração. Rozon-Ramilo *et al.* (2011) observaram diferentes efeitos sobre bactérias, quironomídeos e peixes, expostos a efluentes de mina em experimentos com mesocosmos. A utilização de testes *in situ* também tem se mostrado bastante eficiente. Lourenço *et al.* (2012; 2013) observaram, em um estudo com minhocas expostas a solo contaminado de uma mina de urânio, diferentes efeitos negativos como redução do crescimento e reprodução, danos no DNA, citoxicidade, e alteração na expressão de alguns genes envolvidos em funções fisiológicas chave associadas a respostas ao estresse oxidativo. Marques *et al.* (2013) observaram redução da bioacumulação de metais em *Pelophylax perezi* (Amphibia: Ranidae) em ambientes ácidos, através da exposição *in situ* desses organismos em lagoas de uma mina de urânio desativada.

No contexto da bioacumulação e biomagnificação, Skipperud *et al.* (2013) avaliando três espécies de peixes oriundas de um lago dentro de uma área de mineração de urânio, identificaram nos órgãos desses animais acúmulos de ^{210}Pb e ^{210}Po em níveis potencialmente perigosos a população.

Outra metodologia utilizada é a análise enzimática do solo. Antunes *et al* (2011) verificaram que a avaliação de solos de uma mina de urânio abandonada através de análise da atividade microbiana usando uma abordagem multivariada validava os resultados obtidos em

ensaios ecotoxicológicos de estudos anteriores (Antunes *et al*, 2008). A condução de testes de bioluminescência, Microtox, tem sido utilizada por diferentes pesquisadores na avaliação de toxicidade desses compartimentos (Calace *et al*, 2005; Sarmiento *et al*, 2011). Sarmiento *et al* (2011) utilizando testes Microtox, demonstraram que a toxicidade de sedimento de um córrego receptor de drenagem ácida de mina estava principalmente relacionada às concentrações de Fe, SO_4^{-2}, As e Cr em sedimentos localizados no curso d'água.

O uso de técnicas como o TIE (*Toxicity Identification Evaluation*) também tem sido relevantes para identificação de contaminantes, embora, em áreas de mineração, geralmente a toxicidade esteja relacionada à presença de metais. Harford *et al* (2013) observaram por meio dessa técnica, que águas de minas após tratamento de destilação apresentavam toxicidade a diferentes espécies de água doce, devido principalmente a presença de manganês enquanto a adição de cálcio, sódio e potássio reduziam sua toxicidade. Brix *et al* (2010) identificaram os íons Ca^{2+} e $SO4^{2-}$ como os principais responsáveis pelo efeito de toxicidade à *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea: Cladocera) expostas a efluentes de minas de rochas duras.

Uma nova tendência é a utilização da abordagem ecotoxicológica com um enfoque mais celular. A condução de experimentos *in vitro* tem sido utilizada na avaliação de áreas impactadas pelas atividades de mineração. Ternjej *et al* (2013) utilizaram células de ovário de bagre em bioensaios *in vitro,* na avaliação da toxicidade de água e sedimento oriundos de uma área de mineração de gipsita. Esses autores observaram redução de viabilidade celular e aumento de danos no DNA, sugerindo essa metodologia para avaliação de amostras ambientais. Para Lourenço *et al* (2013), a análise do perfil de expressão gênica pode ser uma ferramenta extremamente útil para detectar as respostas de minhocas terrestres expostas a metais e radionuclídeos em áreas de mineração, apontando para a possibilidade de desenvolvimento de novos biomarcadores.

Outro aspecto importante do uso da abordagem ecotoxicológica, é a avaliação de medidas mitigadoras por meio de testes e ensaios de toxicidade com organismos-teste. Calace *et al* (2005) através de ensaios utilizando *Vibrio fischeri* (Vibrionales), e análises químicas, observaram que a adição de lodo de uma fábrica de papel rico em carbonatos, silicatos e matéria orgânica, reduziram a biodisponibilidade de metais e a toxicidade de solos acidificados oriundo de uma área de mina.

Geremias *et al* (2012) avaliaram a eficácia da aplicação de carvão calcinado no tratamento da drenagem ácida de mina, utilizando *Allium cepa* (Monocots: Asparagales) como organismo-teste, verificando sucesso na utilização da técnica de remediação. Netto *et al* (2013) avaliando também sedimentos oriundos de drenagem ácida de mina observaram redução de mortalidade de *Artemia* sp (Crustacea: Branchiopoda) e *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) e redução de efeitos genotóxicos em *Allium cepa* (Monocots: Asparagales), quando tratados com sedimento calcinado.

No Brasil, os estudos ecotoxicológicos em áreas de mineração ainda são incipientes, principalmente considerando minerações de ouro. Entretanto, a tendência é que essa abordagem seja cada vez mais utilizada. Dentro do que tem sido feito, Artal *et al* (2013) verificaram efeito de toxicidade aguda e crônica à *Daphnia similis* (Crustacea: Cladocera) e *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea: Cladocera) expostas a efluentes de uma mina de urânio desativadas em Poços de Caldas, MG. Tallini *et al* (2012) conduziram bioensaios com *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea: Cladocera) para água superficial e *Hyalella azteca* (Crustacea : Amphipoda : Hyalellidae) para sedimento de rio influenciado por atividade de mineração de carvão entre outras atividades impactantes. Outro ponto que merece atenção é a necessidade de se estimular a utilização de organismos-teste locais nos ensaios e testes de toxicidade.

5. Ecotoxicologia como base para avaliação de risco em áreas de mineração

Embora as discussões sobre avaliação de risco tenham sido iniciadas nas décadas de 70 e 80, somente em 1996 foi produzida a primeira proposta para um documento norteador contendo todas as etapas necessárias para condução da Avaliação de Risco Ecológico (ARE), sendo publicado pela USEPA e denominado, Guidelines for Ecological Risk Assesment (Rodrigues *et al.*, 2011), finalizado e publicado em 1998 pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, expandindo e substituindo o relatório de Enquadramento de Avaliação de Risco Ecológico de 1992 (USEPA, 1998).

A Avaliação de Risco Ecológico avalia a probabilidade de ocorrerem ou estar ocorrendo efeitos adversos decorrentes da exposição a um ou mais agentes estressores, e se caracteriza como um processo flexível de análise e organização de dados, informações, pressupostos e incertezas (USEPA, 1998).

Considerando contaminantes, o efeito adverso está condicionado ao contato com organismo no meio ambiente, seja pela inalação, ingestão ou contato com a superfície da pele. Nesse contexto, a Ecotoxicologia se torna uma ferramenta fundamental para avaliação de risco ecológico, através da avaliação de biomarcadores específicos de determinados contaminantes nos organismos, como as metalotioneínas (Kägi & Schäffer, 1990), permitindo a compreensão do efeito adverso do agente estressor, ou através da análise de resíduos no tecido de presas, prevendo o efeito potencial nos predadores (USEPA, 1998).

Além disso, a avaliação e identificação de toxicidade (TIE) permite identificar os grupos de substâncias responsáveis pela toxicidade através da realização de ensaios e testes de toxicidade com frações da amostra ambiental, sendo um procedimento previsto tanto para amostras de água quanto amostras de sedimento (USEPA 1991; USEPA 2007).

Em áreas de mineração, a quantidade de metais e ametais liberados durante os processos de extração e beneficiamento, dificulta a avaliação de risco ecológico através de

uma simples identificação química e biológica. Os ensaios e testes ecotoxicológicos aliados à identificação de biomarcadores e resíduos de contaminantes nos organismos, permite a compreensão dos reais efeitos das misturas de contaminantes e a identificação dos químicos mais dominantes e como maior potencial de bioacumulação.

Smittch-Jansen *et al* (2008) ressaltam que para uma avaliação de risco ecológico mais efetiva, é mais importante saber a concentração de contaminantes acumulados nos organismos que saber a concentração destes mesmos contaminantes no ambiente.

Além disso, muitos pesquisadores tem se dedicado a entender o efeito de toxicidade de misturas de metais (Cooper *et al,* 2009), subsidiando o desenvolvimento de modelos voltados à predição desses contaminantes no ambiente. Isso demonstra a importância da ecotoxicologia como ferramenta ecológica capaz de atuar na prevenção dos problemas.

6. Desafios e perspectivas da abordagem ecotoxicológica

A Ecotoxicologia, como ciência relacionada a um contexto ecológico e biomédico,visa se aproximar cada vez mais da prevenção que da remediação. Contudo, a investigação por meio de testes e ensaios de toxicidade, utilizando simplesmente a diagnose laboratorial é insuficiente para abranger as complexas interações entre os contaminantes, sendo necessária a utilização dessa abordagem em campo (Levengood & Beasley, 2007). Assim, a análise de risco de uma substância, não deve estar relacionada apenas aos testes laboratoriais, mas deve abranger o máximo de grupos possíveis, avaliando os impactos nos ecossistemas.

Além disso, os testes ecotoxicológicos conduzidos com as diferentes substâncias devem apresentar resultados semelhantes entre diferentes laboratórios e entre diferentes épocas, devendo ser reproduzíveis (Ratte *et al.,* 2003) e sensíveis a baixas concentrações de contaminantes (Breitholtz *et al,* 2006). Para tanto, diversos protocolos padronizados são utilizados.

Considerando que a variabilidade genética entre organismos afeta a exata reprodutibilidade de bioensaios ecotoxicológicos, a utilização de organismos partenogenéticos, como cladóceros, eliminaria os ricos relacionados a esse fator (Ratte *et al.*, 2003). Contudo, a seleção de um organismo partenogenético com uma variedade genética específica, pode aumentar a diferença entre resultados obtidos entre diferentes laboratórios, devido à diferença de sensibilidade dessas variedades às mesmas substâncias.

Outro fator a ser levado em consideração, é a redução da toxicidade de contaminantes pelo metabolismo dos organismos-teste, como no caso de cladóceros, através da produção de metalotioneínas, a transferência materna de contaminantes e a perda de contaminantes por ecdises, quando os contaminantes são adsorvidos pelas carapaças (Cousins, 1983; Käji & Schäffer, 1980; Roesijade, 1992; Robinson *et al.*, 2003; Amiard *et al.*, 2006; Tsui & Wang, 2007; Nordberg & Nordberg, 2009), aumentando a resistência dos organismos e comprometendo a validade da extrapolação dos resultados.

Além disso, as diferentes espécies apresentam sensibilidades diferentes aos agentes estressores (Mathes & Weidemann, 1990). Assim, é fundamental a utilização de diferentes espécies, contemplando diferentes níveis tróficos, na avaliação de risco de contaminantes. Como exemplo, Antunes *et al* (2008) avaliando a contaminação de solos em uma área próxima a uma mina de urânio, embora não tenham observado efeito de toxicidade para *Vibrio fischeri* (*Microtox*®) e *Daphnia* nas amostras de solos, verificaram efeito de toxicidade à *Eisenia fetida* através dos testes de fuga.

A condução de ensaios de toxicidade *in situ*, é uma maneira eficiente de se avaliar os efeitos adversos à biota. Contudo, a dificuldade de se montar experimentos dessa natureza, os quais precisam estar protegidos de manipulação humana indevida, dificulta a utilização dessa metodologia.

A ausência de áreas de referência ou "backgrounds" é outro problema antigo já abordado por Mathes & Weidemann (1990) e dificulta a comparação entre os diferentes ecossistemas contaminados e os ecossistemas saudáveis. Uma alternativa seria a avaliação de contaminantes acumulados nos organismos ao nível de teia alimentar (Smittch-Jansen *et al*, 2008), o que contemplaria um número maior de níveis tróficos e permitiria uma melhor extrapolação dos resultados.

Os metais em geral estão complexados a sais ou matéria orgânica, tornando difícil determinar a fração de toxicidade específica de cada elemento. Levengood e Beasley (2007) sugerem que os animais utilizados para determinação de CE50 ou CL50 (concentração efetiva ou concentração letal mediana) sejam avaliados também pelas respostas morfológicas, histológicas e pela presença de resíduos. Jiménez-Tenório *et al.* (2007) ao utilizarem a avaliação de efeitos de metais em peixes, verificaram que ela se tornava mais completa quando associada aos ensaios de toxicidade, análise histopatológicas e de biomarcadores para metalotioneínas. Além disso, o estudo de biomarcadores em animais e plantas também pode reforçar o potencial preventivo da ecotoxicologia.

Por outro lado, considerando os mais de cinco milhões de espécies existentes, muito poucas espécies são utilizadas em bioensaios de toxicidade. A diferença de sensibilidade entre as diferentes espécies padronizadas aos mesmos químicos implica no uso de um número maior de espécies para realização da avaliação de risco de um determinado contaminante (Ratte *et al.*, 2003).

A abordagem ecotoxicológica pode avaliar ainda efeitos de medidas mitigatórias, antes mesmo de elas serem aplicadas, a fim de avaliar a eficácia das mesmas. Por exemplo, o uso de cloreto férrico como um agente precipitador na redução da toxicidade de metais, através de processos adsortivos, é prática muito comum em áreas de mineração (Zhao *et al.*, 2013) e companhias de abastecimento de água (Coutinho, 2007). Contudo, ferro pode

potencializar a ação tóxica de arsênio em cladóceros. Também, Alvarenga *et al.* (2008) avaliaram a viabilidade de se utilizar lodo de esgoto para aumentar a qualidade ambiental de solos alterados por atividade de mineração, através da redução da biodisponibilidade de metais.

Breitholtz *et al* (2006) aponta dez desafios impostos a extrapolação de resultados dos testes ecotoxicológicos para avaliação de risco ecológico (Tabela1). Smittch-Jansen *et al* (2008) também apontam dois desafios impostos à abordagem ecotoxicológica: os problemas de contaminação em escala ecossistêmica estarem aumentando em nível de complexidade; e a contaminação em escala global, demandando uma solução multidisciplinar, além de uma simples avaliação do potencial tóxico de um contaminante. Contudo, esta abordagem pode identificar áreas prioritárias para restauração, como sugerido por Oberholster *et al* (2013) avaliando diferentes áreas afetadas por drenagem ácida de mina.

Tabela 1- Desafios apresentados por Breitholt *et al* (2006) para aperfeiçoar o uso de testes de toxicidade em avaliação de risco ecológico.

1. Representatividade dos organismos-teste
A escolha de um organismo-teste envolve questões relacionadas à ecologia deste organismo. A maioria dos testes é conduzida com *Daphnia* e *Ceriodaphnia.* A escolha de organismos partenogenéticos pode suprimir a variável reprodução como parâmetro a ser analisado.
2. Relevância regional
A utilização de espécies padronizadas,que nem sempre são comuns em uma dada região, pode tornar a extrapolação dos resultados irreal. O ideal seria associar ao uso de tais organismos, espécies típicas da área que se deseja avaliar.
3. Sensibilidade dos estágios de vida
Considerando que os organismos apresentam sensibilidades diferentes nos diferentes estágios de vida, o uso de ensaios de toxicidade a nível de população apresentaria maior confiabilidade do que a produção de tabelas de vida a partir de um único indivíduo. Contudo, a elevada carga de trabalho, os longos períodos de teste necessários e os altos custos inviabilizam a utilização dessa metodologia.
4. Efeito da genética de populações
Em ambientes contaminados, ocorre a seleção dos organismos resistentes, reduzindo a longo prazo a variabilidade genética das populações. Dessa forma, em complementação aos testes de toxicidade deveria ser conduzida uma análise da diversidade genética de determinados grupos.
5. Compreensão do mecanismo geral
O uso de técnicas celulares e moleculares poderia complementar os testes ecotoxicológicos, auxiliando na compreensão do mecanismo de ação e assim dos efeitos tóxicos de um determinado contaminante.

6. Disruptores endócrinos

A lacuna de conhecimento sobre disruptores endócrinos e seus efeitos em invertebrados reduz a qualidade do processo de avaliação de risco ecológico. Dessa forma, seria necessário mais pesquisa sobre os disruptores endócrinos de invertebrados a fim de se avaliar melhor o efeito de tais substâncias ao longo da cadeia alimentar e assim do equilíbrio dos ecossistemas.

7. Relevância das rotas de exposição

A rota de exposição de um contaminante tem grande relevância em estudos ecotoxicológicos, principalmente voltados à avaliação de risco ecológico. Muitos poluentes são hidrofóbicos ficando adsorvidos em partículas na água, entrando em contato com o organismo via ingestão desse particulado. Além disso, é importante entender, em um ambiente aquático, por exemplo, qual a rota de contaminação mais importante, se por contato superficial ou ingestão de água contaminada ou de alimento contaminado. O uso de modelos de envenenamento secundário,pode auxiliar a entender esse processo de contaminação via ingestão de alimentos contaminados.

8. Considerações éticas

Com o aumento das pressões para reduzir o uso de peixes e outros vertebrados em testes de toxicidade, começou-se a investir nos testes com cultura de células de peixes. Contudo, o uso desta técnica, pode gerar falsos negativos, já que as culturas são bem menos sensíveis que os organismos em testes de toxicidade. Nesse caso, o uso de algas e invertebrados reconhecidamente sensíveis seria mais adequado em avaliações de risco ecológico.

9. Estratégias de validação de testes

A validação de testes de toxicidade em uma avaliação de risco ecológico está relacionada à escolha de quais conjuntos de testes refletem melhor a realidade ambiental. A ausência de conhecimento sobre propriedades químicas e toxicidade de vários contaminantes é um obstáculo para realização da ARE nessa perspectiva.

10. Precauções de base científica

A abordagem denominada de precaução de base científica considera possíveis efeitos indesejáveis de um determinado contaminante para ARE, ainda que tais efeitos não estejam cientificamente comprovados. É uma forma de prevenir possíveis efeitos adversos de um contaminante através da adoção de medidas preventivas quando existem lacunas de dados ecotoxicológicos.

Embora o público em geral, tanto de países desenvolvidos quanto de países em desenvolvimento, esteja consciente dos problemas ambientais e da necessidade de conservação dos recursos naturais, os interesses políticos e econômicos, como mineração, produção de energia, agricultura, produção de madeira, construção civil, entre outros, prejudicam a aplicação da ciência ecológica e ecotoxicológica na exploração de recursos ambientais (Levengood & Beasley, 2007).

A legislação brasileira, por exemplo, ainda é incipiente em relação ao uso das ferramentas ecotoxicológicas para monitoramento da qualidade ambiental. Embora, a

resolução CONAMA N°357 (2005) incorpore a necessidade de ensaios e testes ecotoxicológicos para avaliação da qualidade de águas superficiais, não há definição de quantos organismos ou quais espécies deveriam ser utilizadas.

Dessa forma, a utilização de uma única espécie em ensaios e testes ecotoxicológicos, pode não abranger todas as possibilidades de riscos associados aos contaminantes de interesse. Em relação às resoluções referentes ao sedimento (CONAMA n°344, 2004), solos e águas subterrâneas (CONAMA n°420, 2011), a utilização de ferramentas ecotoxicológicas não são tão valorizadas, demonstrando a necessidade de reavaliação das diretrizes políticas para implementação da avaliação ecotoxicológica como parte fundamental do monitoramento ambiental e de risco de contaminantes. Além disso, a utilização de espécies tropicais deve ser estimulada, complementando ou mesmo substituindo o uso de espécies de ambientes temperados, muito comum nos laboratórios brasileiros.

No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) é a organização responsável pela normalização dos protocolos de ensaios e testes ecotoxicológicos, assim como de manutenção e cultivo dos organismos-teste e contempla ensaios ecotoxicológicos com algas (ABNT, 2011a), cladóceros (ABNT, 2009; 2010), peixes (ABNT, 2011b) e minhocas (ABNT, 2011c). Contudo, ainda não há protocolos definidos para bioensaios com organismos que vivem no sedimento, sendo normalmente utilizado protocolos definidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) para avaliação de sedimentos (USEPA 1994; 2000).

7. Considerações finais

O avanço tecnológico e a demanda cada vez maior por recursos minerais tem promovido a expansão das atividades de mineração gerando não apenas benefícios econômicos, mas grandes impactos ambientais e sociais. A avaliação de risco de áreas

influenciadas pela mineração tem sido uma ferramenta importante na avaliação e predição de riscos tanto à saúde humana quanto ambiental. Neste contexto, a abordagem ecotoxicológica tem papel fundamental, pois permite avaliar o grau de impacto do ecossistema, prevendo riscos de contaminantes e avaliando a eficácia de medidas mitigadoras.

8. Referências

ABNT 2010. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera).NBR 13373. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 18

ABNT. 2009.. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). NBR 12713, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 23.

ABNT. 2011a. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). NBR 12648, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 28.

ABNT. 2011b. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes NBR 15088, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 22.

ABNT. 2011c. Qualidade do Solo — Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e Eis*enia andrei*) NBR ISO 17512-1, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 26.

Al-Reasi, HA; Wood, CM; Smith, DS. 2013. Characterization of freshwater natural dissolved organic matter (DOM): Mechanistic explanations for protective effects against metal toxicity and direct effects on organisms. Environment International, 59: 201–207.

Alvarenga, P; Palma, P; Gonçalves, AP; Baião, N; Fernandes, RM; Varennes, A; Vallini, G; Duarte, E; Cunha-Queda, AC. 2008. Assessment of chemical, biochemical and

ecotoxicological aspects in a mine soil amended with sludge either urban or industrial origin. Chemosphere, 70: 1774-1781.

Alvarenga, P; Palmas, P; Varennes, A; Cunha-Queda, AC. 2012. A contribution towards the risk assessment of soils from the São Domingos Mine (Portugal): Chemichal, microbial and ecotoxicologial indicators. Environmental Pollution, 161: 50-56.

Amiard, JC; Amiard-Triquet, C; Barka, S; Pellerin, J; Rainbowd, PS. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. Aquatic Toxicology, 76:160–202.

Anawar, RM. 2013. Impact of climate change on acid mine drainage generation and contaminant transport in water ecosystems of semi-arid and arid mining areas. Physics and Chemistry of the Earth, 58–60: 13–21.

Antunes, SC; Castro, BB; Moreira, C; Gonçalves, F; Pereira, R. 2013. Community-level effects in edaphic fauna from an abandoned mining area: Integration with chemical and toxicological lines of evidence. Ecotoxicology and Environmental Safety, 88: 65–71.

Antunes, SC; Castro, BB; Pereira, R; Gonçalves, F; 2008. Contribution for tier 1 of the ecological risk assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): II. Soil ecotoxicological screening. Science of the total environment, 390: 387 – 395.

Antunes, SC; Pereira, R; Marques, SM; Castro, BB; Gonçalves, F. 2011. Impaired microbial activity caused by metal pollution: A field study in a deactivated uranium mining area. Science of the Total Environment, 410–411: 87–95.

Artal, MC; De-Almeida, G; Caloto-Oliveira, A; Santosa, MAPF; Umbuzeiro, GA; Coneglian, CMR. 2013. Toxicity assessment of an effluent derived from an inactivated uranium mine: the Poços de Caldas (Brazil) example. Ecotoxicology and Environment Contamination, 8: (1) 35-40.

Breitholtz, M; Rudén, C; Hansson, SO; Bengtsson, BE. 2006. Ten challenges for improved ecotoxicological testing in environmental risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 63: 324–335.

Bright, DA; Coedy, B; Dushenko, WT; Reimer, KJ. 1994. Arsenic transport in a watershed receiving gold mine effluent near Yellowknife, Northwest Territories, Canada. The Science of the Total Environment 155: 237-252.

Brix, KV; Gerdes, R; Grosell, M. 2010. Thiocyanate,calcium and sulfate as causes of toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in a hard rock mining effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 1646–1652.

Calacea, N; Campisib, T; Iacondinib, A; Leonia, M; Petronioa, BM; Pietrolettia, M. 2005. Metal-contaminated soil remediation by means of paper mill sludges addition: chemical and ecotoxicological evaluation. Environmental Pollution, 136: 485-492.

Chapman, PM. 2002. Ecological risk assessment (ERA) and hormesis. The Science of the Total Environment, 288: 131–140.

Clifford, M; McGeer, JC. 2009. Development of a biotic ligand model for the acute toxicity of zinc to *Daphnia pulex* in soft waters. Aquatic Toxicology, 91: 26–32.

Collins , PC; Croot, P; Carlsson, J; Colaço, A; Grehan, A; Hyeong, K; Kennedy, R; Mohne, C; Smith , S; Yamamoto, H; Rowden, A. 2013. A primer for the Environmental Impact Assessment of mining at seafloor massive sulfide deposits. Marine Policy, 42: 198–209.

CONAMA 344 (2004). Conselho Nacional de Meio Ambiente. "Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências." 25 de março de 2004 - Publicação DOU nº 087, de 07/05/2004, págs. 56-57. Alterada pela Resolução nº 421 de 2010. Revogada pela Resolução nº 454 de 2012.

CONAMA 357 (2005). Conselho Nacional de Meio Ambiente, "Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.". 17 de março de 2005 - Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63 - Alterada pelas Resoluções nº 370, de 2006, nº 397, de 2008, nº 410, de 2009, e nº 430, de 2011. Complementada pela Resolução nº 393, de 2009.

CONAMA 420 (2009). Conselho Nacional de Meio Ambiente. "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." 28 de dezembro de 2009 - Publicação DOU nº 249, de 30/12/2009, págs. 81-84.

Cooper, N. L.; Bidwell, J. R.; Kumar, A. 2009. Toxicity of copper, lead and zinc mixtures to Ceriodaphnia dubia and Daphnia carinata. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1523–1528.

Cousins, RJ. 1983. Metallothionein-Aspects Related to Copper and Zinc Metabolism. Journal of Inherited Metabolic Disease, 6 (1): 15-21.

Coutinho, W. (2007). Emprego da flotação a ar dissolvido no tratamento de cursos d'água (Avaliação de desempenho da estação de tratamento dos Córregos Ressaca e Sarandi afluentes à represa da Pampulha). Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hidricos. Belo Horizonte, MG, Universidade Federal de Minas Gerais. **Mestrado:** 118.

Deleebeeck, NME; Muyssen; BTA; De Laender; F; Janssen; CR; De Schamphelaere, KAC. 2007. Comparison of nickel toxicity to cladocerans in soft versus hard surface waters. Aquatic Toxicology, 84: 223–235.

Durán, AP; Rauch, J; Gaston, KJ. 2013. Global spatial coincidence between protected areas and metal mining activities. Biological Conservation, 160: 272–278.

Durand, JF. 2012. The impact of gold mining on the Witwatersrand on the rivers and karst system of Gauteng and North West Province, South Africa. Journal of African Earth Sciences, 68: 24–43.

Foth, H. 1999. Ecotoxicology. In: Marquardt, H; Schäfer, SG; McClellan, RO; Welsch, F. (Org) Toxicology, Academic Press, cap.45, 1067-1085.

Geremias, R; Bortolotto, T; Wilhelm-Filho, D; Pedrosa, RC; Fávere, VT. 2012. Efficacy assessment of acid mine drainage treatment with coal mining waste using *Allium cepa* L. as a bioindicator. Ecotoxicology and Environmental Safety, 79: 116–121.

Giurco, D; Cooper, C. 2012. Mining and sustainability: asking the right questions. Minerals Engineering, 29: 3–12.

Hall, AH. 2002. Chronic arsenic poisoning. Toxicology Letters, 128: 69–72.

Harford, AJ; Jones, DR; Dam, RAV. 2013. Highly treated mine waters may require major ion addition before environmental release. Science of the Total Environment, 443: 143–151.

Jain, CK; Ali, I. 2000. Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. Water. Resorces, 34 (17): 4304-4312.

Jiménez-Tenorio, N; Morales-Caselles, C; Kalman, J; Salamanca, MJ; Canales, MLG; Sarasquete, C; DelValls, TA. 2007. Determining sediment quality for regulatory proposes using fish chronic bioassays. Environment International, 33: 474–480.

Kägi, JHR; Schäffer, A. 1990. Biochemistry of metallothioneint. Biochemistry, 27 (23): 8509-8515.

Levengood, JM; Beasley, VR. 2007. Principles of Ecotoxicology. In: Gupta, RC (Org) Veterinary Toxicology: Basic e clinical principles. Academic Press, Elsevier, cap.57: 689-708. ISBN: 978-0-12-370467-2.

Lourenço, J; Pereira, R; Gonçalves, F; Mendo, S. 2013. SSH gene expression profile of *Eisenia andrei* exposed in situ to a naturally contaminated soil from an abandoned uranium mine. Ecotoxicology and Environmental Safety, 88: 16–25.

Lourenço, J; Pereira, R; Silva, A; Carvalho, F; Oliveira, J; Malta, M; Paiva, A; Gonçalves, F; Mendo, S. 2012. Evaluation of the sensitivity of genotoxicity and cytotoxicity endpoints in earthworms exposed *in situ* to uranium mining wastes. Ecotoxicology and Environmental Safety, 75: 46–54.

Marques, SM; Chaves, S; Gonçalves, F; Pereira, R. 2013. Evaluation of growth, biochemical and bioaccumulation parameters in *Pelophylax perezi* tadpoles, following an in-situ acute exposure to three different effluent ponds from a uranium mine. Science of the Total Environment, 445–446: 321–328.

Mathes, K; Weidemann, G. 1990. A baseline-ecosystem approach to the analysis of ecotoxicological effects . Ecotoxicology and Environmental Safety, 20: 197-202.

McClintock, TR; Chen, Y; Bundschuh, J; Oliver, JT; Navoni, J; Olmos, V; Lepori, EV; Ahsan, H; Parvez, F. 2012. Arsenic exposure in Latin America: Biomarkers, risk assessments and related health effects. Science of the Total Environment, 429: 76–91.

Menegaki, ME ; Kaliampakos, DC. 2012. Evaluating mining landscape: A step forward. Ecological Engineering, 43: 26– 33.

Netto, E; Madeira, RA; Silveira, FZ; Fiori, MA; Angioleto, E; Pich, CT; Geremias, R. 2013. Evaluation of the toxic and genotoxic potential of acid mine drainage using physicochemical parameters and bioassays. Environmental toxicology and pharmacology: 35: 511–516.

Niemeyer, JC; Moreira-Santos, M; Nogueira, MA; Carvalho, GM; Ribeiro, R; Silva, EM; Sousa, JP. 2010. Environmental risk assessment of a metal-contaminated area in the Tropics. Tier I: screening phase. J Soils Sediments, 10:1557–1571.

Nordberg, M; Nordberg, GF. 2009. Metallothioneins: historical development and overview. Metal Ions in Life Sciences, 5: 1–29.

Oberholster, PJ; Genthe, B; Hobbs, P; Cheng, PH; Klerk, AR; Botha, AM. 2013. An ecotoxicological screening tool to prioritise acid mine drainage impacted streams for future restoration. Environmental Pollution, 176: 244-253.

Ouellet, JD; Dubé, MG; Niyogi, S. 2013. The influence of food quantity on metal bioaccumulation and reproduction in fathead minnows (*Pimephales promelas*) during chronic exposures to a metal mine effluent. Ecotoxicology and Environmental Safety, 91: 188–197.

Park; EJ; Jo, HJ; Jung, J. 2009. Combined effects of pH, hardness and dissolved organic carbon on acute metal toxicity to *Daphnia magna*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 15: 82–85.

Pauwels, H; Pettenati, M; Greffié, C. 2010. The combined effect of abandoned mines and agriculture on groundwater chemistry. Journal of Contaminant Hydrology, 115: 64–78.

Ratte, HT; Hammers-Wirtz, M; Cleuvers, M. 2003. Ecotoxicity testing. In: Markert, BA; Breure, AM; Zechmeister, HG. Bioindicators and Biomonitors. Elsevier Science Ltd.

Robinson, KA; Bairda, DJ; Wronab, FJ. 2003. Surface metal adsorption on zooplankton carapaces: implications for exposure and effects in consumer organisms. Environmental Pollution, 122: 159–167.

Rodrigues, APC; Castilhos, ZC; Cesar, RG; Almosny, NRP; Linde-Arias, AR; Bidone, ED. 2011. Avaliação de risco ecológico: conceitos básicos, metodologia e estudo de caso. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, Série Estudos e Documentos l, 78. 126p.

Roesijadi, G. 1992. Metallothioneis in metal regulation and toxicity in aquatic animals. Aquatic Toxicology, 22: 81-114.

Rozon-Ramilo, LD; Dubé, MG; Rickwood, CJ; Niyogi, S. 2011. Examining the effects of metal mining mixtures on fathead minnow (*Pimephales promelas*) using field-based multi-trophic artificial streams. Ecotoxicology and Environmental Safety, 74: 1536–1547.

Sardo, AM; Soares, AMVM. 2010. Can behavioural responses of Lumbriculus variegatus (Oligochaeta) assess sediment toxicity? A case study with sediments exposed to acid mine drainage. Environmental Pollution, 158: 636–640.

Sarmiento, AM; DelValls, A; Nieto, JM; Salamanca, MJ; Caraballo, MA. 2011. Toxicity and potential risk assessment of a river polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). Science of the Total Environment, 409: 4763–4771.

Sarmiento, AM; DelValls, A; Nieto, JM; Salamanca, MJ; Caraballo, MA. 2011. Toxicity and potential risk assessment of a river polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). Science of the Total Environment, 409: 4763–4771.

Schwartz, ML; Vigneault, B. 2007. Development and validation of a chronic copper biotic ligand model for *Ceriodaphnia dubia.* Aquatic Toxicology, 84: 247–254.

Skipperud, L; Jørgensen, AG; Heier, LS; Salbu, B; Rosseland, BO. 2013. Po-210 and Pb-210 in water and fish from Taboshar uranium mining Pit Lake, Tajikistan. Journal of Environmental Radioactivity, 123: 82-89.

Smittch-Jansen, M; Veit, U; Dudel, G; Altenburger, R. 2008; An ecological perspective in aquatic ecotoxicological: Approach and challenges. Basic and Applied Ecology, 9: 337-345.

Song, J; Han, C; Li, P; Zhang, J; Liu, D; Jiang, M; Zheng, L; Zhang, J; Song, J. 2012. Quantitative prediction of mining subsidence and its impact on the environment. International Journal of Mining Science and Technology, 22: 69–73.

Sonter, LJ; Moran, CJ; Barrett, DJ. 2013. Modeling the impact of revegetation on regional water quality: A collective approach to manage the cumulative impacts of mining in the Bowen Basin, Australia. Resources Policy, http://dx.doi.org/10.1016/j.resourpol. 2013.02.007.

Styblo, M; Del Razo, LM; Veja, L; Germolec, DR; LeCluyse, EL; Hamilton, GA; Reed, W; Wang, C; Cullen, WR; Tomas, DJ. 2000. Comparative of toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methilated arsenicals in rat and human cells. Archives of Toxicology, 74: 289-299.

Suopajärvi, L. 2013. Social impact assessment in mining projects in Northern Finland: Comparing practice to theory. Environmental Impact Assessment Review, 42: 25–30.

Swart, P; Dewulf, J. 2013. Quantifying the impacts of primary metal resource use in life cycle assessment based on recent mining data. Resources, Conservation and Recycling, 73: 180–187.

Tallini, K; Guimarães, LSP; Fachel, JMG; Rodriguez, MTR. 2012. Estabelecimento de Protocolo de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático tendo o Programa de Monitoramento do Rio Jacuí, São Jerônimo (RS). Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology, 7: (1) 55-63.

Ternjej, I; Srček, VG; Mihaljević, Z; Kopjar, N. 2013. Cytotoxic and genotoxic effects of water and sediment samples from gypsum mining area in channel catfish ovary (CCO) cells. Ecotoxicological Environment Safety, http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv. 2013.09.014i.

Toujaguez, R;. Ono, FB; Martins, V; Cabrera, PP; Blanco, AV; Bundschuh, J; Guilherme, LRG. 2013. Arsenic bioaccessibility in gold mine tailings of Delita, Cuba. Journal of Hazardous Materials, disponível em http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.045. Acesso em 20 de setembro de 2013.

Tsui MTK, Wang W-X. 2007. Biokinetics and tolerance development of toxic metals in *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry, 26:1023– 1032.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 1991. Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluation. EPA/600/6-15/003. Washington. D.C.87p.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates. Washington. D.C.133p.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. EPA/630/R-95/002F. Washington. D.C.188p.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 2000. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. Washington. D.C.212p.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 2007. Sediment Toxicity Identification Evaluation. EPA/600/R-07/080. Washington. D.C.145p.

Wang, F; Leung, AOW; Wu, SC; Yang, MS; Wong, MH. 2009. Chemical and ecotoxicological analyses of sediments and elutriates of contaminated rivers due to e-waste recycling activities using a diverse battery of bioassays. Environmental Pollution, 157: 2082-2090.

Wu, B; Liu, Z; Xu, Y; Li, DS; Li, M. 2012. Combined toxicity of cadmium and lead on the earth worm *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta). Ecotoxicology and Environmental Safety, 81: 122–126.

Wu, L. (2004). "Review of 15 yearsof research on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium." Ecotoxicology and Environmental Safety **57**(3): 257-269.

Zagatto, P. A. 2008. Ecotoxicologia. Zagatto, P A e Bertoletti, E. Ecotoxicologia Aquática – Pincípios e Aplicações 2ed., São Carlos, RIMA.

Zhang, J; Ding, T; Zhang, C. 2013. Biosorption and toxicity responses to arsenite (As[III]) in Scenedesmus quadricauda. Chemosphere, 92(9): 1077-1084.

Zhao, XG; Guan, YY; He, JQ; Huang, ZG. 2013. Comparative Study on the Different Coagulants for Mine Water. Advanced Materials Research, 800: 89-92.

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE TOXICIDADE DE ARSÊNIO ISOLADO E ASSOCIADO A FERRO

ABSTRACT

Arsenic is an ametal ubiquitous in nature and is known by its high toxicity. Many studies had tried elucidate the arsenic metabolism in the cell and its impacts to plants, animals and human health. In aqueous phase, inorganic arsenic is more common and its oxidation state (As III and As V) is dependent of physical and chemical environment conditions. The aim of this study was to evaluate arsenic toxicity alone and associated with iron to *Daphnia similis* and *Ceriodaphnia silvestrii.* The results showed no difference between As III and As V to *D. similis* and a difference to *C. silvestrii.* The EC50 mean value was 0.45 $mg.L^{-1}$ (As III) and 0.54 $mg.L^{-1}$ (As V) to *D. similis* and 0.44 $mg.L^{-1}$ (As III) and 0.69 $mg.L^{-1}$ (As V) to *C. silvestrii.* However, the IC25 mean value was 0.59 $mg.L^{-1}$ (As V), indicating that *C. silvestrii* has detoxification mechanisms which reduce arsenic toxicity. Beyond, in presence of iron at 0,02 and 2,0 $mg.L^{-1}$, EC50 reduced to half for *D. similis* (0,34 e 0,38 $mg.L^{-1}$) and *C. silvestrii* (0,37 e 0,37 $mg.L^{-1}$), showing antagonic effect between these substances.

Keywords: Arsenic toxicity, iron toxicity, aquatic ecotoxicology.

RESUMO

Arsênio é um ametal amplamente distribuído na natureza e é conhecido por sua elevada toxicidade. Muitos estudos tem buscado elucidar o metabolismo do arsênio nas células e seu impacto em plantas e animais e suas implicações para o homem. A forma inorgânica de arsênio é mais comumente encontrada nas águas naturais e seu estado de oxidação (As III e As V) depende de condições físicas e químicas ambientais. Este estudo buscou avaliar a toxicidade de arsênio isolado e associado ao ferro em *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii.* Não foi verificada diferença de toxicidade entre as formas III e V para *D. similis* e uma diferença para *C. silvestrii.* A CE50 variou de 0,54 $mg.L^{-1}$ (As V) e 0,45 $mg.L^{-1}$ (As III) para *D. similis* a 0,69 $mg.L^{-1}$ (As V) e 0,44 $mg.L^{-1}$ (As III) para *C. silvestrii.* Todavia a CI25 média foi 0,59 $mg.L^{-1}$ (As V), indicando que *C. silvestrii* possui mecanismos de dexintoxicação que reduzem a toxicidade do arsênio. Além disso, na presença de ferro em concentrações de 0,02 e 2 $mg.L^{-1}$ ocorreu redução significativa da CE50, tanto para *D. similis* (0,34 e 0,38 $mg.L^{-1}$) quanto para *C. silvestrii* (0,37 e 0,37 $mg.L^{-1}$), demonstrando efeito antagônico entre as substâncias.

Palavras-chave: Toxicidade de arsênio, toxicidade de ferro, ecotoxicologia aquática.

1. Introdução

O arsênio é um ametal extremamente tóxico e amplamente distribuído na natureza, podendo existir em quatro estágios de oxidação: As (V), As (-III), As (0) e As (III). O arsênio normalmente está associado a minérios de metais como cobre, chumbo e ouro (Oreland & Stolz, 2003), e sua liberação para o ambiente está fortemente relacionada a atividades de mineração (Sharma & Sohn, 2009), principalmente na extração e beneficiamento de ouro (Borba *et al.*, 2000; Borba *et al.*, 2004; Vasconcelos *et al.*, 2004) e, em geral, está adsorvido à óxidos e hidróxidos de ferro e manganês (Meng *et al.*, 2002; Sarifuzzaman *et al.*, 2007; Zeng *et al.*, 2008) ou mesmo à matéria orgânica (Redman *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2006).

Entre as formas inorgânicas em ambientes aquáticos e aeróbicos predomina o arsenato, forma pentavalente. O arsenito, forma trivalente, em geral está presente em ambientes anóxicos ou com baixo potencial de oxidação, normalmente em águas subterrâneas (Oreland & Stolz, 2003; Borba *et al.*, 2004; Sharma & Sohn, 2009).

Considerando que a forma trivalente é mais tóxica que a forma pentavalente e que as formas inorgânicas são mais tóxicas que as formas orgânicas (Styblo *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2013), diversos estudos tem procurado identificar as espécies de arsênio presentes no ambiente (Borba *et al.*, 2000; Borba *et al.*, 2004; Vasconcelos *et al.*, 2004; Sharma & Sohn, 2009) e à toxicidade das diferentes formas desse ametal a organismos aquáticos e terrestres isolado (Levy *et al.*, 2005; Norwood *et al.*, 2007; Liao *et al.*, 2008; Miao *et al.*, 2012) ou associado a outros metais (Lyn Patrick, 2003; Fikirdeşici *et al.*, 2012; Zou *et al.*, 2013).

Além disso, tem sido descobertas diversas formas de mitigação e remediação desse ametal no ambiente através de processos de precipitação ou adsorção a óxidos e hidróxidos, principalmente de ferro, (Meng *et al.*, 2002; Zaw & Emett, 2002; Fernandez-Machado & Miotto-Bigatão, 2007), à adsorção a íons não metálicos, como fosfatos e silicatos (Zeng *et al.*, 2008) e complexos de quitosana-ferro (Fagundes, *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2008), e à

adsorção à matéria orgânica de origem animal (Teixeira, 2004) e vegetal, enriquecida com ferro ou grãos de concha de mexilhões (Seico-Regosa *et al.,* 2013) e à parede celular de algas (Arribas, 2009).

O metabolismo do arsênio tem papel fundamental na sua toxicidade e envolve a redução para a forma trivalente seguida de sua metilação e formação de metil-arsênio. Yin *et al.* (2011) avaliando o metabolismo do arsênio no ciliado *Tetrahymena thermophila*, verificaram que após 48h de exposição, o arsenato dissolvido foi convertido à arsenito (As III) e a formas metiladas. Em plantas, parece ocorrer a formação de fitoquelantes, tornando indisponível o arsênio absorvido pelas raízes (Hartley-Whitaker *et al.,* 2001).

Enquanto a forma inorgânica pentavalente pode substituir o fosfato em diversas reações, a forma trivalente, inorgânica e orgânica pode reagir com grupos tióis de proteínas, inibindo sua atividade levando a alterações no metabolismo celular gerando um estresse oxidativo, promovendo danos ao DNA e alterações na multiplicação celular (Hu, *et al.,* 2002; Hughes, 2002) estando associada por alguns autores a desenvolvimento de diabetes melitus (Tseng *et al.*, 2002).

Embora, a metilação de arsênio inorgânico trivalente, esteja associada a mecanismos de desintoxicação celular, as formas metiladas podem ter ação mais citotóxica, genotóxica e inibitória para algumas enzimas (Tomas & Lin, 2001; Styblo *et al.,* 2002; Wang *et al.,* 2002), causando danos ao DNA que podem ser potencializados com aumento de Fe^{2+} (Ahmad *et al.*, 2002). Contudo, é possível detectar, tanto as formas metiladas como as formas inorgânicas, na urina de pessoas expostas cronicamente ao arsênio inorgânico pela ingestão de água (HSueh *et al.,* 2002; Zheng *et al.,* 2002).

O arsênio tem alto potencial de bioacumulação na cadeia alimentar, podendo ser encontrado em organismos planctônicos, peixes e em vegetais (Santos, 2004; Liao, *et al.*,

2008; Miao *et al*, 2012). Todas essas formas de acumulação expõem o homem a esse ametal através da ingestão de água e alimentos contaminados.

Diante do exposto, avaliar a contaminação de arsênio na água é fundamental para preservar ecossistemas e evitar a contaminação humana. Para tanto, muito estudos tem utilizado a abordagem ecotoxicológica, a qual permite avaliar o efeito direto de arsênio isolado ou associado a outras substâncias em organismos representativos da cadeia.

Os cladóceros ocupam a zona de transição na cadeia alimentar aquática, entre os produtores primários e consumidores secundários, e podem ser considerados como fundamentais na transferência de metais ao longo da cadeia (Tsiu & Wang, 2007). Dessa forma, grande parte dos estudos relacionados à toxicidade de arsênio tem sido conduzida com organismos desse grupo e envolve avaliação de efeito das formas inorgânicas e orgânicas dissolvidas em água ou através da ingestão (Yu *et al.*, 2002; Fikirdesici *et al.*, 2012; Miao *et al.*, 2012).

Embora a alimentação tenha papel fundamental na bioacumulação de metais em peixes, para cladóceros não existe certeza quanto aos mecanismos que mais contribuem para a bioacumulação, se por absorção de metais dissolvidos em água ou por ingestão de alimentos contaminados (Tsui & Wang, 2004). Sabe-se, no entanto, que a toxicidade de arsênio em cladóceros pode ser reduzida devido a mecanismos metabólicos como a produção de metalotioneinas, transferência materna e perdas através de mudas (Cousins, 1983; Käji & Schäffer, 1980; Roesijade, 1992; Robinson *et al.*, 2003; Amiard *et al.*, 2006; Tsui & Wang, 2007; Nordberg & Nordberg, 2009).

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de toxicidade de arsênio a duas espécies de cladóceros, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*, sendo esta última, uma espécie tropical. Além disso, foi avaliado o efeito da toxicidade de arsênio

quando associado a íons ferro, o qual tem sido utilizado como agente precipitador não só de arsênio, mas de diferentes metais, em processos de remediação.

2. Materiais e métodos

2.1. Cultivo de organismos-teste e avaliação de sensibilidade

Os organismos-teste utilizados foram *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* para os testes de toxicidade aguda e somente *C. silvestrii* para os testes de toxicidade crônica. Os cladóceros foram mantidos em cubas de vidro em densidade de 30 ind.L^{-1} à 21 ± 1°C para *D. similis* e 100 ind.L^{-1} à 25 ± 1°C para *C. silvestrii*, em fotoperíodo de 12h. A água de cultivo utilizada é proveniente de fonte natural localizada no bairro Cidade Nova, em Belo Horizonte, MG. Os organismos foram alimentados com ração de peixe fermentada e filtrada e solução de algas clorofíceas *Pseudokirchneriella subcapitata* na densidade de 10^5 cél.ml^{-1} Mensalmente foram conduzidos testes de sensibilidade utilizando como substância de referência NaCl (cloreto de sódio) nas concentrações 1,2; 1,4; 1,6; 1,8 e 2 mg.L^1 para *Ceriodaphnia silvestri* e 1,4; 1,7; 2,0; 2,3 e 2,6 mg.L^{-1} para *Daphnia similis.* Para validação dos testes de toxicidade foram considerados neonatas cujos genitores estiveram dentro da curva da carta-controle do laboratório. O procedimento do cultivo e a condução de testes de toxicidade seguiram normas padronizadas pela ABNT (2003; 2005).

2.2. Preparo das soluções teste de As e Fe

As soluções de As III e V foram preparadas através da dissolução de $NaAsO_3$ (arsenito de sódio) e $NaAsO_4$ (arsenato de sódio), da marca Sigma-Aldrich com 99% de pureza. As soluções de Fe III foram preparadas a partir de Fe Cl_3 (cloreto férrico) da marca Merck com 99% de pureza. As soluções-estoque foram preparadas com água destilada em concentração de 20 g.L^{-1} considerando a massa do elemento de interesse contido na mistura total. Para cada teste foi produzida uma solução de 200 mg.L^{-1},da qual foram feitas diluições para concentrações a serem testadas. As diluições foram realizadas utilizando água de cultivo dos

organismos. A escolha destes sais considerou a alta solubilidade e a redução da influência de outros componentes, uma vez que a substância de referência utilizada comumente na avaliação de sensibilidade dos organismos é o NaCl.

2.3. Determinação das concentrações de teste

Para determinação das concentrações a serem testadas, foram conduzidos testes preliminares considerando as concentrações em escala logarítmica. Foram conduzidos testes de toxicidade aguda com As nas concentrações 0,0002, 0,002, 0,02, 0,2 e 2,0 $mg.L^{-1}$ e com Fe nas concentrações 0,002, 0,02, 0,2, 2,0 e 20 $mg.L^{-1}$. Foram realizados três testes preliminares para cada elemento. As concentrações dos testes foram calculadas em séries logarítmicas, considerando a faixa entre a maior concentração onde não foi observado efeito de imobilidade e a menor concentração onde observou-se 100% de imobilidade (Equação 1).

(eq.1)

$$\frac{}{}$$

onde:

n: n° de concentrações teste

an: concentração final

ao: concentração inicial

2.4. Testes de toxicidade com As e Fe

Os testes de toxicidade aguda com As III e V foram conduzidos em tréplicas contendo cinco neonatas entre 6 e 24h, expostas a 10 ml da solução teste, sendo mantidas no escuro por 48h e sem alimentação. Para o Controle utilizou-se água de cultivo. Foram definidas seis concentrações de teste, sendo 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,7 e 1,0 $mg.L^{-1}$ para As III e 0,3, 0,4, 0,5, 0,7, 1,0 e 1,3 $mg.L^{-1}$ para As V. A análise dos dados de toxicidade aguda foi realizada através do programa Sperman-Karber para cálculo da concentração que causa efeito em 50% da população (CE50). Foram conduzidos pelo menos cinco testes de toxicidade com as duas

espécies de organismos-teste com o objetivo de se obter uma Carta-Controle preliminar. Foram considerados válidos os resultados cuja imobilidade do Controle fosse menor que 10%.

Considerando que a forma pentavalente de As é mais comum em águas superficiais, os testes de toxicidade crônica foram conduzidos apenas com arsenato de sódio (As V). A determinação das concentrações considerou a média da CE50 e os respectivos intervalos de confiança. Estes testes consistiram na exposição de dez indivíduos isolados de *C. silvestrii* a 20 ml da solução-teste e no caso do grupo Controle, água de cultivo com pH entre 7,0 e 7,2 e oxigênio dissolvido acima de 5,0 $mg.L^{-1}$, durante 7 dias. Os organismos foram mantidos em fotoperíodo de 12h a 25 ±1°C, sendo alimentados no início e a cada monitoramento, considerando as proporções da alimentação do cultivo. Durante todo o experimento o pH e oxigênio foram monitorados.

Para evitar a concentração da solução devido à evaporação, a solução foi totalmente renovada a cada monitoramento, realizado em dias alternados, quando também foram contadas e retiradas as neonatas produzidas e as réplicas cujas fêmeas estavam mortas. Ao final os organismos foram medidos (mm). Para a análise do teste crônico foi calculado a Concentração de Inibição (CI25) utilizando o programa ICPIN (2.0). As neonatas da última reprodução foram mantidas incubadas por quatro dias, sendo 50 % nas mesmas condições do teste e 50 % em água de cultivo considerando uma média de 10 organismos para cada concentração e Controle.

Os testes de toxicidade com Fe seguiram os mesmos procedimentos utilizados nos testes com As. Contudo, considerando sua baixa toxicidade e impossibilidade de determinar a CE50 devido a sua precipitação em altas concentrações, optou-se por trabalhar este metal somente em associação ao As. Dessa forma, para os testes de toxicidade de As-Fe, foram consideradas as concentrações de As V utilizadas isoladamente em concentrações fixas de ferro, 0,02, 0,2 e 2,0 $mg.L^{-1}$.

2.5. Comparação dos valores de CE50 obtidos

As médias das CE50-48h foram comparadas através da seguinte fórmula endossada pela USEPA (1985) e obtidas de Costa (2013) para cálculo do parâmetro de magnitude:

(eq. 2)

Onde G é o parâmetro de magnitude, LS é o limite superior do intervalo de confiança obtido da CE50-48h. Os números 1 e 2 referem-se aos diferentes bioensaios. Após o cálculo de G, foram calculados H e Z a partir das seguintes equações:

(eq.3)

(eq. 4)

Onde H e Z são parâmetros de comparação, Maior CE50 e Menor CE50 referem-se aos valores de CE50 em comparação. A diferença entre as médias de CE50 foram consideradas significativas quando Z > H.

3. Resultados

A toxicidade de Arsênio V foi menor do que sua forma trivalente, tanto para *Daphnia similis* quanto para *Ceriodaphnia silvestrii* (Figura 1). *C. silvestrii* apresentou menor sensibilidade às duas formas de arsênio comparada à *D. similis,* sendo essa diferença significativa para As V (Tabela 1 e 2). Os valores de CE50 para *D. similis* variaram de 0,47 a 0,67 (As V) e 0,34 a 0,52 (As III). Para *C. silvestrii*, esses valores variaram de 0,47 a 0,96 para As V e 0,41 a 0,48 para As III (Figura 2). A toxicidade de As V aumentou

significativamente na presença de ferro (Tabela 2), exceto para *D. similis* na concentração de 0,2 $mg.L^{-1}$ (Figura 3).

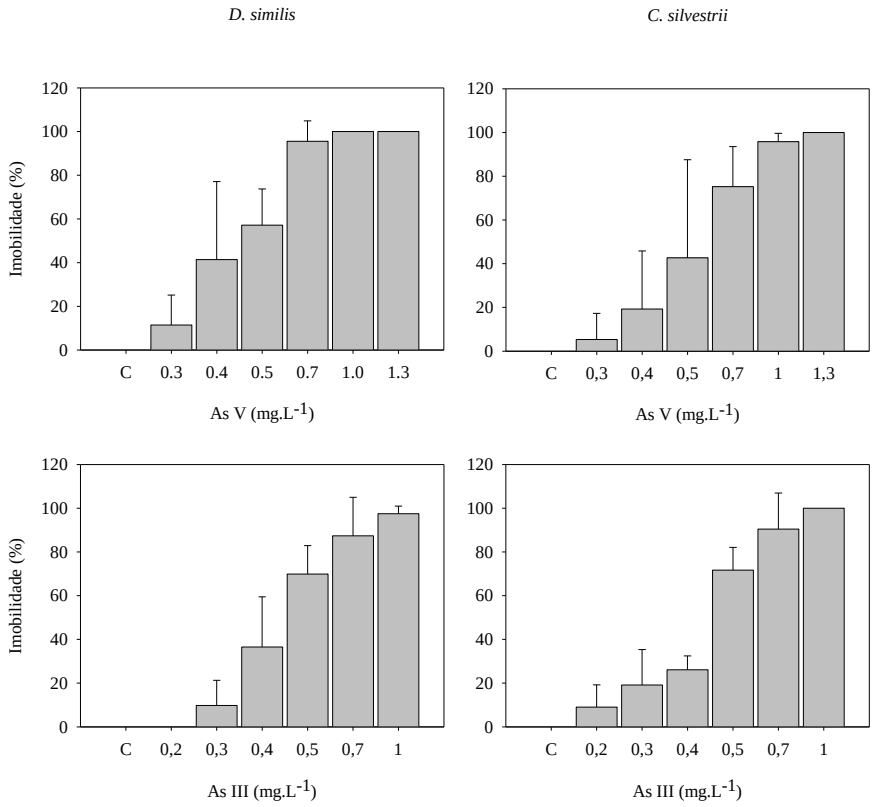

Figura 1- Porcentagem de imobilidade de *D. similis* e *C. silvestrii* para As III e V.

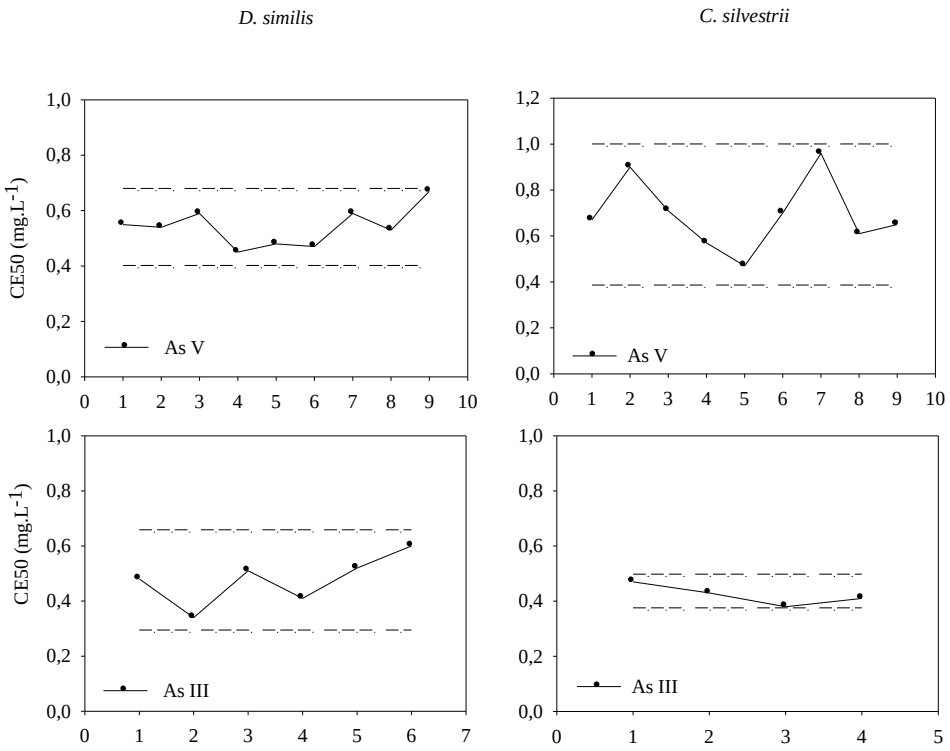

Figura 2- Carta-controle de CE50 para *D. similis* e *C. silvetrii* utilizando arsênio nas formas III e V.

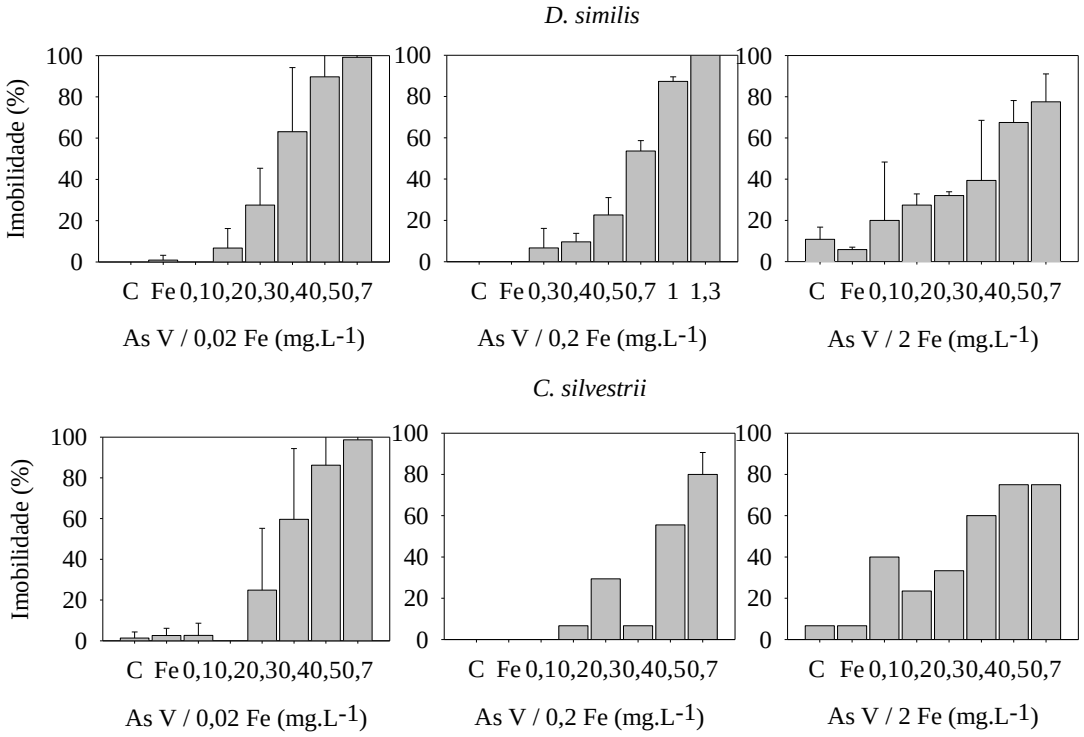

Figura 3- Porcentagem de imobilidade de *D. similis* e *C. silvestrii* para As V na presença de Fe nas concentrações 0,02, 0,2 e 2,0 mg.L^{-1} (C: controle laboratório; CFe: controle com ferro).

Tabela 1- Valores médios de CE50 ($mg.L^{-1}$) para *C. silvestrii* e *D. similis* utilizando As III e V isolados e As V na presença de Fe.

	D. similis			*C. silvestrii*		
	(CE50)	IC (MIN)	IC (MÁX)	(CE50)	IC (MIN)	IC (MÁX)
As V	0,54 ± 0,07	0,48 ± 0,06	0,61 ± 0,09	0,69 ± 0,15	0,63 ± 0,14	0,77 ± 0,18
As III	0,45 ± 0,08	0,41 ± 0,07	0,50 ± 0,09	0,44 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,50 ± 0,04
As V + 0,02 Fe III	0,34 ± 0,06	0,31 ± 0,06	0,39 ± 0,06	0,37 ± 0,07	0,34 ± 0,07	0,41 ± 0,07
As V + 0,2 Fe III	0,66 ± 0,00	0,58 ± 0,01	0,77 ± 0,01	0,50 ± 0,00	0,44 ± 0,01	0,57 ± 0,01
As V + 2 Fe III	0,38 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,37 ± 0,00	0,30 ± 0,00	0,47 ± 0,00

IC: intervalo de confiança; $p<0,05$

Tabela 2 – Parâmetros H e Z calculados através das médias de CE50-48h de As III e As V e As V associado a Fe obtidas para *D. similis* e *C. silvestrii*.

	D. similis		*C. silvestrii*	
	H	Z	H	Z
As V/AsIII	1,17	1,20	1,18	1,57
As V/As V + 0,02 Fe III	1,20	1,59	1,24	2,03
As V/As V + 0,2 Fe III	1,22	1,22	1,19	1,38
As V/As V + 2 Fe III	1,25	1,42	1,30	1,86
	D. similis x *C. silvestrii*			
	H		Z	
As V	1,18		1,28	
As III	1,18		1,02	

Em relação aos testes de toxicidade crônica com As V, ocorreu redução da reprodução a partir da concentração de 0,4 $mg.L^{-1}$ de As. Nas concentrações de 0,4 à 0,7 $mg.L^{-1}$, houve um pico na segunda reprodução, com decréscimo na última (Figura 4), sendo a CI25 bastante elevada (Tabela 3). Em relação ao crescimento dos adultos, foi verificada redução significativa do crescimento ($p<0,002$) somente a partir da concentração de 0,5 $mg.L^{-1}$ de As. Em relação às neonatas, ocorreu redução significativa somente naquelas mantidas em solução de As (Figura 5).

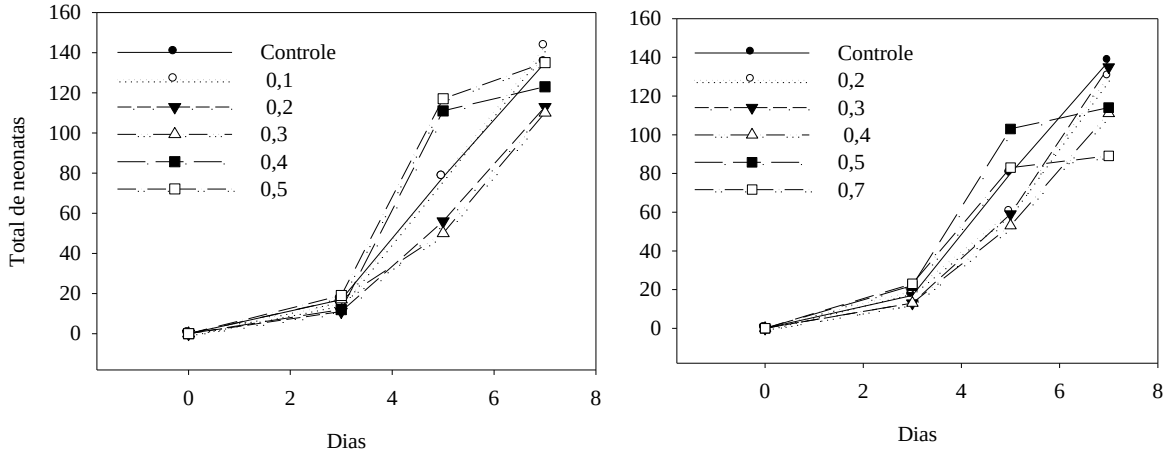

Figura 4- Total de neonatas nos testes de toxicidade crônica com arsênio V utilizando *Ceriodaphnia silvestrii.*

Tabela 3- Média de neonatas (n=10) por concentração e CI25 de As ($mg.L^{-1}$).

	Concentrações							CI25
	Controle	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,7	
Teste 1	16,00 ±3,67	14,33 ±4,85	11,30 ±4,22	11,00 ±3,59	12,30 ±2,83	13,44 ±5,41	-	0,61
Teste 2	13,80 ±2,74	-	14,33 ±3,35	13,50 ±2,32	11,10 ±3,60	11,40 ±1,96	9,11 ±4,86	0,57

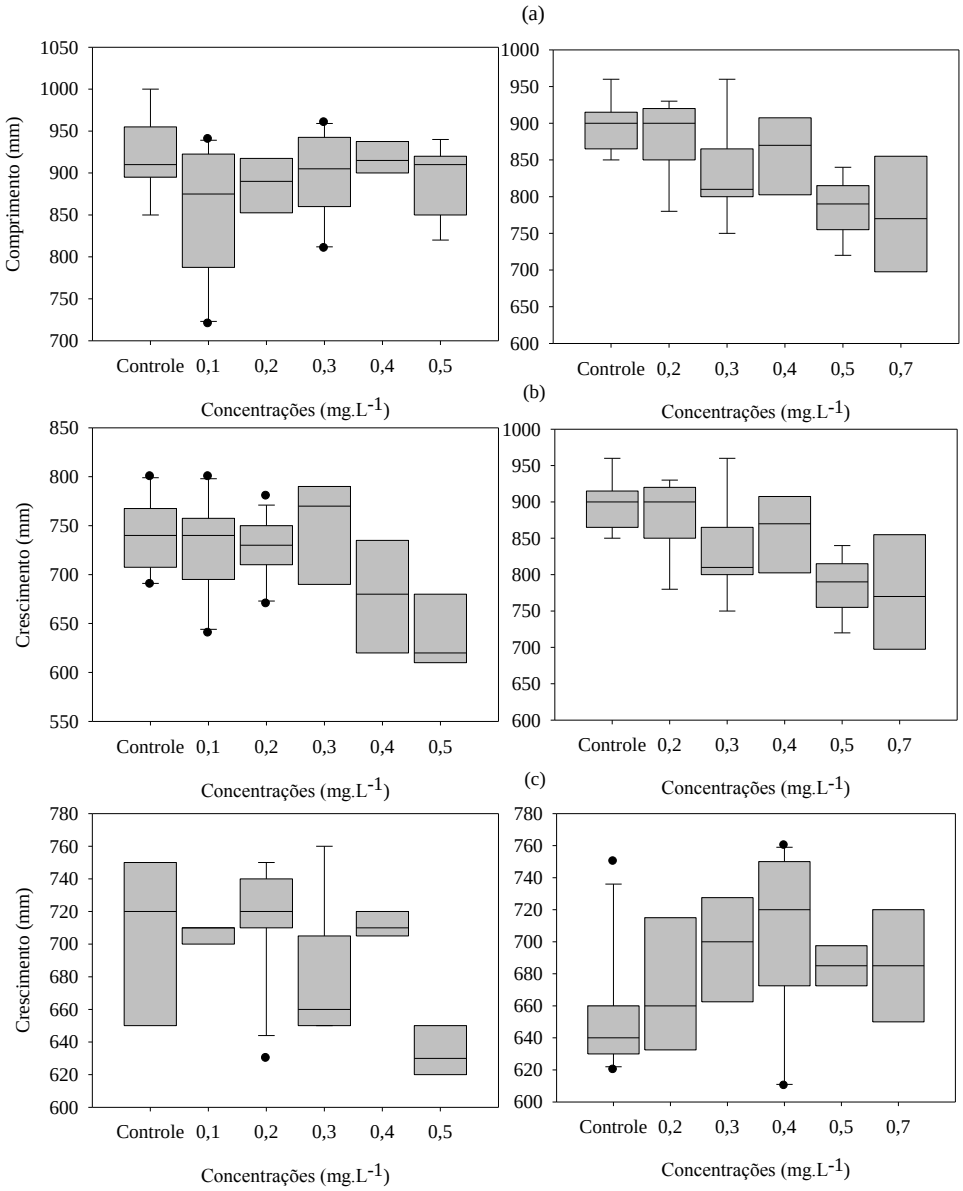

Figura 5- Variação no crescimento de *C. silvestrii* ao final de sete dias (a) e das neonatas mantidas na solução de arsênio (b) e em água de cultivo (c). À esquerda, teste 1 e à direita, teste 2.

4. Discussão

A sensibilidade de *D. similis* foi significativamente superior à sensibilidade de *C. silvestrii,* para As V. Os valores de CE50 e dos parâmetros Z e H demonstraram a diferença de sensibilidade dos organismos-teste. Os valores de CE50 para arsênio pentavalente variaram muito para *C. silvestrii* quando comparada à *D. similis*, sendo o oposto observado para a

forma trivalente de arsênio. Esses resultados reforçaram a importância de se utilizar mais de um organismo-teste em bioensaios e testes de toxicidade aguda.

Em geral, a imobilidade ocorreu bruscamente a partir da concentração 0,4 $mg.L^{-1}$ para as duas formas de arsênio, ocorrendo grande variação entre as repetições, o que pode ser observado pelo elevado desvio-padrão nas concentrações intermediárias. Esses resultados corroboraram dados obtidos por Norwood *et al.* (2007), que avaliando a taxa de mortalidade de *Hyalella azteca* expostas à arsênio pentavalente, não conseguiram medir a taxa de mortalidade com acurácia devido a mortalidades bruscas a partir de uma determinada concentração.

A toxicidade de arsenato (forma pentavalente) se justifica por esse anion substituir fosfatos e interferir no metabolismo do organismo, promovendo, por exemplo, uma depleção de ATP na célula (Hughes, 2002). Levy *et al.* (2005) verificaram que a toxicidade de arsenato a duas espécies de algas poderia ser reduzida aumentando a concentração de fosfato, o que reduzia o efeito da competição com o ametal.

Os valores de CE50 para As V obtidos para ambas as espécies, corroboraram respostas obtidas por Fikirdeşici *et al.* (2012) para *Daphnia magna* que apresentou CE50 de 0,5 $mg.L^{-1}$ de As. Nesse mesmo estudo, os autores verificaram aumento da toxicidade de arsênio quando associados a cádmio, um metal extremamente tóxico e de grande importância médica.

O aumento da toxicidade de arsênio na presença de ferro, demonstra o risco da contaminação desse ametal em ambientes aquáticos naturalmente ricos em ferro, caso do Quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais. Além disso, a utilização de ferro como coagulante, principalmente na forma de sais de ferro, procedimento muito comum para remoção de arsênio V da água (Teixeira, 2004), pode ter efeito oposto ao desejado.

O ferro, embora seja um micronutriente, quando em excesso, pode ser extremamente tóxico, principalmente por promover a Reação de Fento e liberação de íons hidroxilas (Bury & Grosell, 2003). O excesso de ferro pode ser acumulado no núcleo celular promovendo aumento de condições oxidantes levando danos do DNA (Meneghini, 1997 ; Emerit *et al.*, 2001).

Zou *et al.* (2013) avaliando interação entre nanopartículas de Fe_3O_4 e arsenato em *Tetrahymena pyriformis*, verificaram que tanto $FeCl_3$ quanto Fe_3O_4 isolados não causavam toxicidade ao ciliado. Contudo, o Fe_3O_4 potencializava a toxicidade de arsenato após longo período de exposição por reduzir o arsenato (V) a arsenito (III).

Uma alternativa ao uso de sais de ferro seria a adsorção por biomassa animal, como proposto por Teixeira (2004), que utilizou penas de galinha triturada para remoção de arsênio III ou Fagundes *et al.* (2008) e Oliveira (2008), que utilizaram um complexo de quitosana-ferro (III) para remoção de arsênio V de águas superficiais. Considerando ainda, a constituição quitinosa da carapaça de cladóceros, a toxicidade de arsênio pode estar relacionada à adsorção do ametal pelo exoesqueleto dos organismos-teste, e a presença de ferro poderia aumentar essa adsorção, embora alguns autores associem a adsorção de metais ao calcáreo presente na carapaça (Tsiu & Wang, 2007).

Carney *et al.* (1986) avaliando assimilação de cádmio em *Daphnia magna*, verificaram que a maior parte do metal era adsorvido à carapaça dos organismos, estando sua tolerância relacionada à trocas de exoesqueletos. Yu e Wang (2002), avaliando a assimilação de cádmio e zinco em *Daphnia magna*, verificaram que 50% do cádmio e zinco assimilados estavam adsorvidos ao exoesqueleto dos animais.

Robinson *et al.* (2003) verificaram que *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*, espécies congêneres deste estudo, acumulavam rapidamente cádmio em suas carapaças

através de adsorção e que o tempo de saturação estava fortemente relacionado à concentração do metal, sendo mais rápido em concentrações maiores.

Por outro lado, a utilização de sais de ferro, no caso cloreto férrico, pode ter sido o responsável pela redução da toxicidade em concentrações intermediárias de ferro para *D. similis*. Segundo Fagundes *et al.* (2008), a presença de anions, oriundo de sais, principalmente cloretos, pode reduzir a adsorção de As V por quitosana-ferro (III), devido à competição de Cl^- pelos sítios de adsorção com Fe^{3+}.

Outro aspecto a ser considerado, é a matéria orgânica que pode ser mais eficiente na redução da toxicidade que coagulantes a base de ferro, uma vez que a resposta de *C. silvestrii* nos testes de toxicidade crônica foi oposta ao esperado, onde a mortalidade na concentração mais alta não ultrapassou 10 %, valor esse permitido para o Controle, e a CI25 foi superior à CE50. A diminuição da sensibilidade deste organismo pode estar relacionada à alimentação.

Em ambientes naturais, a matéria orgânica pode atuar tanto na oxidação de arsenito (As III) a arsenato (As V), quanto na quelagem das espécies de arsênio, principalmente da forma pentavalente, reduzindo a toxicidade do ametal (Redman *et al*, 2002). Considerando que os testes crônicos foram conduzidos com a forma pentavalente, a segunda hipótese seria mais plausível. Entretanto, a matéria orgânica, oriunda da alimentação, pode não ter um papel como quelante, considerando que mesmo o ametal que fosse adsorvido passaria pelo trato dos organismos-teste, que são filtradores.

Por outro lado, a alimentação pode ter auxiliado nos processos de desintoxicação e excreção de arsenato, uma vez que pode ter ocorrido a ligação entre alimento e o ametal. Outro aspecto a ser considerado, está relacionado a alterações na atividade de filtração, que na presença de alimento, reduz o tempo de passagem tanto do alimento quanto do metal, reduzindo sua assimilação pelo organismo (Tsui & Wang, 2007).

Além disso, a presença de um ambiente favorável, no caso com nutrientes, pode favorecer a formação de agentes desintoxicantes, como a metalotioneína, que ao se ligar aos íons de arsênio torna-os indisponíveis (Miao *et al*., 2012). As metalotioneinas são proteínas cuja produção parece ser estimulada em situações de estresse, como contaminação por metal e tem papel fundamental na redução da toxicidade de selênio, cádmio, zinco, cobre, prata e arsênio entre outros, através de sua ligação com os contaminantes (Cousins, 1983; Käji & Schäffer, 1980; Roesijade, 1992; Amiard *et al.*, 2006; Tsui & Wang, 2007; Nordberg & Nordberg, 2009; Miao *et al*., 2012). Bodar *et al.* (1990) verificaram que a tolerância temporária ao metal Cd em *Daphnia magna* estava relacionada a produção de metalotioneinas.

A redução da assimilação de metais em cladóceros também pode ocorrer através da excreção, das ecdises e até mesmo por transferência materna para as neonatas (Tsiu & Wang, 2007). Miao *et al* (2012) verificaram que a bioacumulação de arsenato em *Daphnia magna* era reduzida quando a alimentação era aumentada e que havia perdas de arsênio ao longo do ciclo de vida do organismo, sendo 4% por ecdises, 12% pela excreção e quase 30 % era transferido para as neonatas. Muyssen e Janssen (2002) verificaram que em *Daphnia magna* expostas à zinco, 38% do metal acumulado estava adsorvido à carapaça dos organismos e que a maior perda de metal ocorreu devido às ecdises.

O pico de neonatas observado na segunda reprodução nas concentrações mais elevadas, reduzido à praticamente zero na terceira contagem é outro ponto a ser considerado. Esse aumento na segunda reprodução pode estar relacionado a um *trade off*, onde o número de neonatas produzidos seria proporcional à transferência de arsênio materna. Lam e Wang (2006) verificaram que a produção de neonatas de *Daphnia magna* estava positivamente correlacionada à disponibilidade de selênio para transferência materna, e com a redução deste elemento a ninhada posterior era também reduzida.

Tsui e Wang (2004a) verificaram também em *D. magna* que as perdas de mercúrio por transferência materna, variaram entre 11 a 15% para a forma inorgânica e 32 a 41% para a forma orgânica do metal. Estes mesmos autores, avaliando somente a forma orgânica de mercúrio verificaram que a transferência materna é o segundo mecanismo mais importante de perda desse metal (Tsiu & Wang, 2004b).

Dessa forma, a produção de neonatas pode ser uma estratégia para transferência do ametal reduzindo a toxicidade ao indivíduo adulto, já que a transferência materna de um elemento é proporcional a sua concentração no adulto, sendo esta uma rota alternativa para eliminação de contaminantes (Tsiu & Wang, 2007). *Daphnia magna*, por exemplo, apresenta baixa capacidade de biomagnificação para arsenato, porém alta taxa de transferência materna (Miao *et al.*, 2012). No Controle e nas concentrações de arsênio V inferiores a 0,4 $mg.L^{-1}$, não foi verificada diferença entre o número de neonatas produzidas entre a segunda e terceira reprodução.

Em relação ao comprometimento do crescimento, a redução do crescimento nas concentrações 0,5 e 0,7 $mg.L^{-1}$ contrastando com a elevada reprodução corroborou efeito de *trade off*, onde a perda no crescimento é compensado pelo ganho na reprodução. Guan e Wang (2006) avaliando a tolerância de *Daphnia magna*, expostas à cádmio, observaram este mesmo efeito de *trade off*. Considerando comunidades aquáticas, esse fenômeno é extremamente importante, pois, garante a continuidade das gerações em ambientes de estresse.

O crescimento das neonatas só ficou comprometido quando mantidas na situação de estresse, no caso, as soluções de arsênio nas concentrações 0,5 e 0,7 $mg.L^{-1}$. Quando essas neonatas eram mantidas na água de cultivo do laboratório, o crescimento não apresentou diferença significativa do Controle. Esses resultados corroboraram o estudo de Miao *et al.* (2012) que verificaram em *Daphnia magna*, mecanismos eficientes para perda de arsênio.

Dessa forma, o impacto da contaminação de arsênio a cladóceros pode ser revertido após imobilização desse ametal em ambientes aquáticos.

Além disso, o aumento de crescimento em relação ao Controle das neonatas mantidas expostas à arsenato na concentração de 0,3 $mg.L^{-1}$, sugeriu que os indivíduos possam ter desenvolvido resistência ao ametal. Sanchez *et al.* (2004) verificaram aumento da resistência e desenvolvimento de tolerância à zinco em neonatas de *Daphnia magna* cujos parentais foram expostos a esse metal.

Ward e Robison (2005) também observaram aumento de resistência de neonatas de *D. magna* cujos parentais foram previamente expostos a cádmio. Contudo, estes mesmos autores verificaram perda de variabilidade genética nas populações resistentes a Cd e aumento da sensibilidade a outros contaminantes como o fenol.

5. Conclusões

A toxicidade de arsênio observada para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* foi muito inferior ao esperado, considerando os limites estabelecidos pela legislação brasileira, sendo a reprodução e o crescimento, parâmetros pouco afetados, indicando, a exemplo de *Daphnia magna,* que esses organismos possuem mecanismos eficientes de descontaminação, os quais poderão ser confirmados através de estudos com biomarcadores bioquímicos.

Contudo, a adição do ferro aumentou a sensibilidade dos organismos, demonstrando que no ambiente, onde diferentes contaminantes estão em interação, a toxicidade do arsênio pode ser aumentada. Além disso, a utilização de cloreto férrico deve ser monitorada através de testes de toxicidade para avaliar a eficácia desta técnica.

Embora os valores obtidos para CE50 e CI25 de arsênio tenham sido superiores aos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05, o aumento de toxicidade desse ametal associado a outros metais, no caso o ferro, justifica a permanência de limites mais restritivos.

6. Referências

ABNT 2005. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera).NBR 13373. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 14

ABNT. 2003. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). NBR 12713, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 19.

Ahmad, S; Kitchin, KT; Cullen, WR. 2002. Plasmid DNA damage caused by methylated arsenicals, ascorbic acid and human liver ferritin. Toxicology Letters, 133: 47–57.

Amiard, JC; Amiard-Triquet, C; Barka, S; Pellerin, J; Rainbowd, PS. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. Aquatic Toxicology, 76:160–202.

Arribas, DMA. 2009. Tratamento de águas contaminadas com arsénio por adsorção em algas. Departamento de Engenharia Química. Universidade do Porto. Dissertação, 62p.

Borba, RP; Figueiredo, BR; Cavalcanti, JA. 2004. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). R. Esc. Minas, Ouro Preto, 57(1): 45-51.

Borba, RP; Figueiredo, BR; Rawlins, B; Matschullat, J. 2000. Arsenic in water and sediment in the iron quadrangle, state of Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Geociências, 30 (3):558-56.

Bury, N; Grosell, M. 2003. Iron acquisition by teleost fish. Comparative Biochemistry and Physiology C, 135: 97–105.

C.W.M. Bodar, CWM; Sluis, I; Montfort, JCP; Voogt, PA; Zandee, DI. 1990. Cadmium resistance in *Daphnia magna*. Aquatic Taxicology, 16: 33-40.

Carney, GC; Shore, P; Chandra, H. 1986. The uptake of cadmium from a dietary and soluble source by the srustacean *Daphnia magna*. Environmental Research 39: 290-298.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). (2005) Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Alterada pelas resoluções n° 370, de 2006, nº 397, de 2008, nº 410, de 2009 e nº 430, de 2011. Complementada pela Resolução nº 393, de 2009. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências*. Diário Oficial da União, n. 53, p. 58-63.

Costa, BVM. 2013. Toxicidade do tributilestanho (tbt) para o copépodo Marinho *Tisbe biminiensis.* Programa de Pósgraduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco (PPGO-UFPE). Mestrado: 121p.

Cousins, RJ. 1983. Metallothionein-Aspects Related to Copper and Zinc Metabolism. Journal of Inherited Metabolic Disease, 6 (1): 15-21.

Emerit, J; Beaumont, C; Trivin, F. 2001. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. Biomedicine and Pharmacotherapy, 55 (6): 333–339.

Fagundes, T; Bachmann, AWL; Tomaz, HSO; Rodrigues, CA. 2008. Adsorção de arsênio (V) pela quitosana ferro – III reticulada. Quimica. Nova, 31 (6): 1305-1309.

Fernandes-Machado, NRCF; Miotto-Bigatão, DMM. 2007. Utilização de zeólitas sintetizadas a partir de xisto retortado na remoção de asênio em águas contaminadas. Quimica Nova, 30 (5): 1108-1114.

Fikirdeşici, S; Altindağ, A; Ozdemir, E. 2012. Investigation of acute toxicity of cadmium-arsenic mixtures to *Daphnia magna* with toxic units approach. Turk J Zool. 36(4): 543-550.

Guan, R; Wang, WX. 2006. Multigenerational cadmium acclimation and biokinetics in Daphnia magna. Environmental Pollution,141: 343-352.

Hartley-Whitaker, J; Ainsworth, G; Vooijs, R; Bookum, WT; Schat, H; Meharg, AA. 2001. Phytochelatins are involved in differential arsenate tolerance in *Holcus lanatus.* Plant Physiology, 126: 299–306.

Hsueh, YM; Hsu, MK; Chiou, HY; Yang, MH; Huang, CC; Chen, CJ. 2002. Urinary arsenic speciation in subjects with or without restriction from seafood dietary intake. Toxicology Letters, 133: 83–91.

Hu, Y; Jin, XJ; Snow, ET. 2002. Effect of arsenic on transcription factor AP-1 and NF-_B DNA binding activity and related gene expression. Toxicology Letters, 133: 33-45.

Hughes, MF. 2002. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. Toxicology Letters 133: 1–16.

Kägi, JHR; Schäffer, A. 1990. Biochemistry of metallothioneint. Biochemistry, 27 (23): 8509-8515.

Lam, IKS; Wang, WX. 2006. Transgenerational retention and maternal transfer of selenium in *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, 25 (9): 2519–2525.

Levy, Jl; Stauber, Jl; Adams, Ms; Maher, Wa; Kirby, Jk; Jolley, Df. 2005. Toxicity, biotransformation, and mode of action of arsenic in two freshwater microalgae (*Chlorella* sp. and *Monoraphidium Arcuatum*). Environmental Toxicology and Chemistry, 24 (10): 2630–2639.

Liao, CM; Jau, SF; Chen, WY; Lin, CM; Jou, LJ; Liu, CW; Liao, VHC; Chang, FJ. 2008. Acute toxicity and bioaccumulation of arsenic in freshwater clam *Corbicula fluminea.* Environmental Toxicology, 702-711.

Lyn Patrick, ND. 2003. Toxic metals and antioxidants: Part. II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. Alternative Medicine Review, 8 (2): 106-128.

Meneghini, R. 1997. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. Free Radical Biology & Medicine, 23 (5): 783–792.

Meng, X; Korfiatis, GP; Bang, S; Bang, KW. 2002. Combined effects of anions on arsenic removal by iron hydroxides. Toxicology Letters, 133: 103–111.

Miao, AJ; Wang, NX; Yang, LY; Wang, WX. 2012. Accumulation kinetics of arsenic in *Daphnia magna* under different phosphorus and food density regimes. Environmental Toxicology and Chemistry, 31 (6): 1283–1291.

Muyssen, BTA; Janssen, CR. 2002. Accumulation and Regulation of Zinc in *Daphnia magna*: Links with Homeostasis and Toxicity. Archives Environmental Contamination Toxicology. 43: 492–496.

Nordberg, M; Nordberg, GF. 2009. Metallothioneins: historical development and overview. Metal Ions in Life Sciences, 5: 1–29.

Norwood, WP; Borgmann, U; Dixon, DG. 2007. Chronic toxicity of arsenic, cobalt, chromium and manganese to *Hyalella azteca* in relation to exposure and bioaccumulation. Environmental Pollution.147: 262-272.

Oliveira, CP. 2008. Adsorção e dessorção de arsênio por quitosana-ferro (III) – reticulada e seu emprego na remoção deste elemento de águas da região do quadrilátero ferrífero – MG. Universidade Federal de Viçosa. Pós-graduação em Agroquímica. Dissertação de Mestrado. 125p.

Oremland, RS; Stolz, JF. 2003. The Ecology of Arsenic. Science, 300: 939-943.

Redman, A; Macalady, DL; Ahmann, D. 2002. Natural Organic Matter Affects Arsenic Speciation and Sorption onto Hematite. Enviroment Sciense Technology, 36: 2889-2896.

Robinson, KA; Bairda, DJ; Wronab, FJ. 2003. Surface metal adsorption on zooplankton carapaces: implications for exposure and effects in consumer organisms. Environmental Pollution, 122: 159–167.

Roesijadi, G. 1992. Metallothioneis in metal regulation and toxicity in aquatic animals. Aquatic Toxicology, 22: 81-114.

Sanchez, M; Andreu-Moliner, E; Ferrando, MD. 2002. Laboratory investigation into the development of resistance of Daphnia magna to the herbicide molinate. Ecotoxicology and Environmental Safety, 59: 316–323.

Santos, LMG. 2004. Avaliação e otimização de metodologias de determinação do arsênio total, As (III) e As (V) em amostras de água e alimentos e a relevância dos riscos por ingestão. Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle em Qualidade e Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Dissertação, 119p.

Sarifuzzaman, M; Siddique, MNA; Ferdousi, FK; Ahmed, E; Alam, AMS; Ullah, SM. 2007. Studies of Arsenic Mobilization with Iron, Manganese and Copper in Borehole Sediments of the River Padma. Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry**,** 8 (1 & 2): 91-95.

Seco-Reigosa, N; Bermúdez-Couso, A; Garrido-Rodríguez, B; Arias-Estévez, M; Fernández-Sanjurjo, MJ; Álvarez-Rodríguez, E; Núñez-Delgado, A. 2013. As(V) retention on soils and forest by-products and other waste materials. Environmental Science and Pollution Research, 20:6574–6583.

Sharma, VK; Sohn, M. 2009. Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation. Environment International, 35: 743–759.

Styblo, M; Del Razo, LM; Veja, L; Germolec, DR; LeCluyse, EL; Hamilton, GA; Reed, W; Wang, C; Cullen, WR; Tomas, DJ. 2000. Comparative of toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methilated arsenicals in rat and human cells. Archives of Toxicology, 74: 289-299.

Teixeira, MC. 2004. Mecanismos de biossorção seletiva de arsênio (III) em rejeitos ricos em proteínas fibrosas. Universidade Federal de Minas Gerais. Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Tese de Doutorado. 266p.

Thomas, DJ; Styblo, M; Lin, S. 2001. The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. Toxicology and Applied Pharmacology, 176: 127–144.

Tseng, CH; Tseng, CP; Chiou, HY; Hsueh, YM; Chong, CK; Chen, CJ. 2002. Epidemiologic evidence of diabetogenic effect of arsenic. Toxicology Letters, 133: 69–76.

Tsui MTK, Wang W-X. 2007. Biokinetics and tolerance development of toxic metals in *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry, 26:1023– 1032.

Tsui, MKT; Wang, WX. 2004a. Uptake and Elimination Routes of Inorganic Mercury and Methylmercury in *Daphnia magna.* Enviroment Sciense Technology, 38: 808-816.

Tsui, MKT; Wang, WX. 2004b. Maternal transfer efficiency and transgenerational toxicity of methylmercury in *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, 23 (6): 1504–1511.

USEPA. 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organims, 3th ed., EPA-600/4-85-013. Washington, DC. United States Environmental Protection Agency, Office of Water. EPA-600/4-85-013 1985.

Vasconcelos, FM; Ciminelli, VST; Oliveira, RP; Silva, RJ. 2004. Determinação da especiação química e potencial de mobilidade do arsênio em sítios de mineração. Geochim Brasil, 18 (2): 115-120.

Wang, JP; Qi, L; Moore, MR; Ng, JC. 2002. A review of animal models for the study of arsenic carcinogenesis. Toxicology Letters, 133: 17–31.

Wang, S; Mulligan, CN. 2006. Effect of natural organic matter on arsenic release from soils and sediments into groundwater. Environmental Geochemistry and Health, 28:197–214.

Ward, TJ; Robinson, WE. 2005. Evolution of cadmium resistance in *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, 24 (9): 2341–2349.

Yin, XX; Zhang, YY; Yang, J; Zhu, YG. 2011. Rapid biotransformation of arsenic by a model protozoan *Tetrahymena thermophila*. Environmental Pollution, 159:837-840.

Yu, RQ; Wang, WX. 2002. Kinetic uptake of bioavailable cadmium, selenium, and zinc by *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, 21 (11): 2348–2355.

Zaw, M; Emett, MT. 2002. Arsenic removal from water using advanced oxidation processes. Toxicology Letters, 133: 113–118.

Zeng, H; Fisher, B; Giammar, DE. 2008. Individual and Competitive Adsorption of Arsenate and Phosphate To a High-Surface-Area Iron Oxide-Based Sorbent. Enviroment Sciense Technology. 42: 147–152.

Zhang, J; Ding, T; Zhang, C. 2013. Biosorption and toxicity responses to arsenite (As[III]) in Scenedesmus quadricauda. Chemosphere, 92(9): 1077-1084.

Zheng, Y; Wu, J; Ng, JC; Wang, G; Lian, W. 2002. The absorption and excretion of fluoride and arsenic in humans. Toxicology Letters, 133: 77–82.

Zou, XY; Xu, B; Yu, CP; Zhang, HW. 2013. Combined toxicity of ferroferric oxide nanoparticles and arsenic to the ciliated protozoa Tetrahymena Pyriformis. Aquatic Toxicology, 134– 135: 66– 73.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ÁGUA E SEDIMENTO EM UMA ÁREA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR METAIS E ARSÊNIO

ABSTRACT

In the present study, water and sediment quality were evaluated from an ecotoxicological point of view, considering two streams near a gold processing area: Mina Stream, downstream of a tailing dam and Mutuca Stream, located in a water catchment suply. The water and sediment samples were collected on a weekly basis in 2010 and 2011, including dry and wet seasons. Metals, arsenic and nutrients were determined in water and sediment samples of Mina Stream and ecotoxicological tests were conducted with *Ceriodaphnia silvestrii*, *Daphnia similis* and *Chironomus xanthus* following standardized protocols (ABNT, 2003; 2005 and USEPA, 2004). The results showed high Cu (0,07-0,21 $mg.L^{-1}$), Mn (0,37-1,84 $mg.L^{-1}$), and As (0,02-0,19 $mg.L^{-1}$) contamination in water and high As (19,83-472,81 $mg.Kg^{-1}$), Cu (18,65-1468,43 $mg.Kg^{-1}$), Zn (42,44-303,83 $mg.Kg^{-1}$), Ni (2,59-24,96 $mg.Kg^{-1}$), Cr (2,05-19,12 $mg.Kg^{-1}$), Cd (1,32-3,55 $mg.Kg^{-1}$) contamination in sediment samples, beyond chronic toxicity effects observed in both compartments from Mina Stream. Mutuca Stream, in general, presented good water quality, although Cu (13,44-163,15 $mg.Kg^{-1}$) and Ni (0,44-20,15 $mg.Kg^{-1}$) contamination and chronic toxicity effects was sometimes detected in the sediment. These findings showed the importance of monitoring both aquatic environments directly influenced by the activity of gold beneficiation as those located nearby.

Keywords: Mining activities, metals contamination, water and sediment toxicity.

RESUMO

No presente estudo, foi avaliada a qualidade da água e do sedimento de dois córregos próximos a uma planta de beneficiamento de ouro: Córrego da Mina, localizado à jusante da barragem de contenção de rejeitos, e Córrego Mutuca, localizado em uma bacia de captação de água para abastecimento. As coletas de água e sedimento foram realizadas semanalmente no segundo semestre de 2010 e 2011, nos períodos de chuva e seca. Foram determinados metais, arsênio e nutrientes nas amostras de água e sedimento e conduzidos ensaios ecotoxicológicos com *Ceriodaphnia silvestrii*, *Daphnia similis* e *Chironomus xanthus*, seguindo normas ABNT (2003; 2005) e USEPA (2004). Os resultados demonstraram alta contaminação por Cu (0,07-0,21 $mg.L^{-1}$), Mn (0,37-1,84 $mg.L^{-1}$) e As (0,02-0,19 $mg.L^{-1}$) na água e elevada contaminação por As (19,83-472,81 $mg.Kg^{-1}$), Cu (18,65-1468,43 $mg.Kg^{-1}$), Zn (42,44-303,83 $mg.Kg^{-1}$), Ni (2,59-24,96 $mg.Kg^{-1}$), Cr (2,05-19,12 $mg.Kg^{-1}$) e Cd (1,32-3,55 $mg.Kg^{-1}$) no sedimento, além de efeitos de toxicidade crônica em ambos os compartimentos do córrego da Mina. O córrego Mutuca, em geral, apresentou boa qualidade de água, embora tenha sido verificada elevada concentração de Cu (13,44-163,15 $mg.Kg^{-1}$) e Ni (0,44-20,15 $mg.Kg^{-1}$), além de efeito de toxicidade crônica no sedimento. Esses resultados demonstraram a importância de se monitorar tanto os ambientes aquáticos influenciados diretamente pela atividade de beneficiamento de ouro quanto àqueles localizados na área de entorno.

Palavras-chave: Atividades de mineração, contaminação por metais, toxicidade de água e sedimento.

1. Introdução

A atividade de mineração, embora tenha grande relevância econômica e social, causa grandes impactos ambientais. Esse problema se agrava quando as áreas de atividades estão em montanhas, levando à contaminação de ecossistemas aquáticos localizados mais abaixo, através de carreamento de contaminantes, principalmente metais (Palmer *et al.*, 2010). Diante disso, o monitoramento dessa atividade e a proposição de medidas preventivas e/ou mitigadoras são de fundamental importância para a preservação de recursos naturais (ANA, 2006).

A ecotoxicologia aquática é uma importante ferramenta na avaliação de impactos ambientais, considerando o efeito tóxico à biota (Zagatto, 2008). Entretanto, a abordagem ecotoxicológica foi introduzida apenas recentemente na legislação brasileira, através do CONAMA 357/05, visando uma melhor avaliação e monitoramento da qualidade de corpos d'água (Almeida, 2007). Estudos ecotoxicológicos tem se mostrado necessários em áreas impactadas por atividades de mineração, uma vez que a simples análise da concentração de contaminantes não reflete os efeitos ecotoxicológicos no ambiente (Garcia-Lorenzo *et al*., 2009).

Contudo, o monitoramento e o controle de efluentes, em geral, é realizado por meio de análises químicas e físicas do ambiente, como alteração de pH, condutividade, temperatura, salinidade, concentração de metais e do regime hidrológico. Além disso, a análise de metais é normalmente realizada somente em amostras de água, desconsiderando a grande influência dos sedimentos na dinâmica dos ambientes aquáticos. Não é incomum que os monitoramentos cessem à medida que os contaminantes não são mais detectados na água. (ANA, 2006; Nonato *et al*., 2007). Um exemplo disso é a exclusão de córregos da rede de monitoramento anual do Instituto de Gestão de Águas de Minas Gerais.

Por outro lado, os sedimentos influenciam tanto positivamente quanto negativamente um corpo d´água. Se por um lado podem atuar adsorvendo e quelando contaminantes da água, reduzindo sua biodisponibilidade, por outro, podem ser fontes de contaminação contínua à medida que alterações físicas e químicas do meio provocam liberação dos mesmos contaminantes (EPS, 1997; USEPA, 2000). Isso se torna mais evidente em áreas de mineração, cujos principais contaminantes são metais. Dessa forma, o monitoramento de ambientes aquáticos impactados deve também incluir os sedimentos, avaliando seu potencial tóxico.

Nesse sentido, a avaliação de risco ecológico tem sido uma abordagem cada vez mais utilizada (Rodrigues *et al*., 2011), sendo essencial como ferramenta dos sistemas de gestão ambiental (Souza *et al*., 2012). A avaliação de risco leva em consideração aspectos químicos, biológicos e ecotoxicológicos. Diferentes metodologias tem sido aplicadas, e muitos estudos tem buscado padronizar e validar protocolos, seja utilizando os limites da legislação como referência (Tallini *et al*, 2012), seja buscando áreas não impactadas para determinação destes limites (Niemeyer *et al*., 2010).

Neste contexto, o presente estudo visou avaliar impactos em uma área influenciada por atividades de beneficiamento de minério de ouro, que possui um histórico de contaminação por metais e arsênio levando em consideração aspectos químicos e ecotoxicológicos, além de determinar quais parâmetros mais contribuíram para redução de qualidade ambiental.

2. Materiais e Métodos

2.1. Área de estudo

Neste estudo, foi escolhido um córrego próximo a uma planta de beneficiamento de ouro e produção de ácido sulfúrico, o córrego da Mina, que faz parte da Bacia do rio São Francisco, sendo afluente do rio das Velhas (Figura 1) e outro córrego próximo a uma captação de água para abastecimento, o córrego Mutuca (Tabela 1). A escolha dessa área

ocorreu por ser um local onde estão sendo desenvolvidos um conjunto de projetos voltados à caracterização biológica desses córregos, envolvendo estudos ecotoxicológicos de solo e biodiversidade de fitoplâncton, zooplâncton e zoobentos, que juntos com o presente estudo integraram o programa INCT-Acqua.

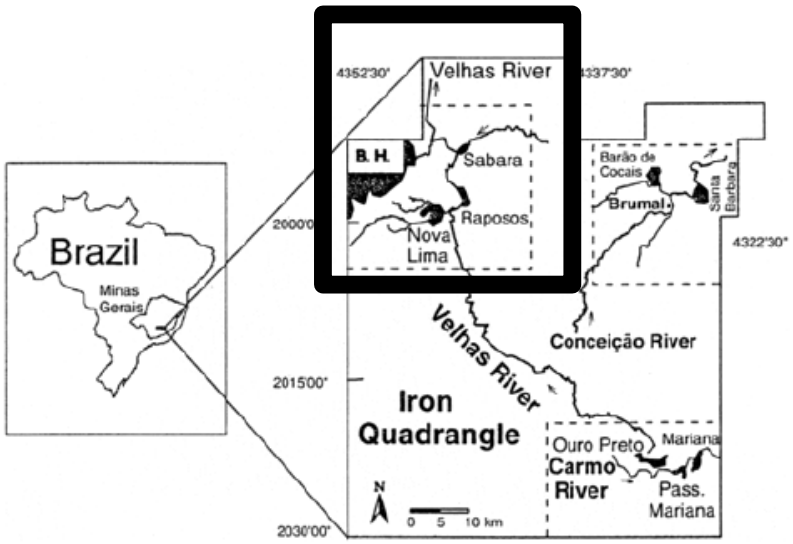

Figura 1: Localização da bacia do rio das Velhas destacando a área de estudo (adaptado de Borba *et.al*., 2004).

Tabela 1- Localização e descrição da área de estudo.

Ponto	Localização	Descrição
Mina	19°58'748S 43°49'259 W	O córrego da Mina recebe efluente diretamente da bacia de contenção de rejeitos da planta metalúrgica e faz parte de uma rede de monitoramento do Instituto de Gestão de Águas de Minas Gerais (IGAM), apresentando um histórico de elevada contaminação por metais e arsênio na água (SEMAD, 2004), o que o diferencia dos demais pontos periodicamente monitorados.
Mutuca	20^{0}00'37.23"S 43˚58'08.92"W	O córrego Mutuca se localiza dentro de uma barragem de captação de água para abastecimento da cidade local e não recebe efluente direto do complexo. Contudo, sua proximidade à planta de beneficiamento de ouro inspira cuidados, uma vez que não se pode descartar possível contaminação aérea. O ponto fez parte da rede de monitoramento do IGAM até 2004.

2.2. Coleta de amostras e determinação de parâmetros físicos e químicos

As coletas de água e sedimento foram realizadas semanalmente durante três campanhas, em novembro e dezembro de 2010 (período chuvoso), junho e julho de 2011 (período seco) e novembro e dezembro de 2011 (período chuvoso), totalizando 17 amostragens. Os dados climatológicos para confirmação da sazonalidade foram obtidos do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Foram realizadas, *in situ*, medidas de parâmetros físicos e químicos da água utilizando a sonda multiparâmetros Hydrolab (Tabela 2).

As amostras de água para realização de ensaios de toxicidade e análise de nutrientes foram coletadas com galões plásticos e armazenadas em gelo até a chegada ao laboratório onde foram mantidas refrigeradas a 4°C. As amostras de sedimento para condução dos bioensaios foram coletadas em potes plásticos considerando a camada superficial do sedimento (aproximadamente 6 cm), seguindo-se os mesmos procedimentos de armazenamento para as amostras de água. Essa amostragem foi realizada quinzenalmente durante os meses citados.

Para determinação de metais totais, as amostras de água foram fixadas *in situ* com ácido nítrico concentrado (50%) até redução do pH a 2. As amostras de sedimento para determinação de metais biodisponíveis, que correspondem à fração relevante do ponto de vista ambiental, foram peneiradas em campo com peneiras de malha de 2 mm. Em laboratório, foi realizada a extração de metais biodisponíveis no sedimento (amostras secas) utilizando ácido clorídrico 0,1M, na proporção de 1g de sedimento para 25 ml de ácido, sendo essa mistura colocada sob agitação durante 2 horas.

A determinação de metais foi realizada no Laboratório de Metalurgia da UFMG, dentro do projeto INCT-ACQUA através de Espectrometria de emissão óptica com plasma

indutivamente acoplado (ICP-OES). A determinação de arsênio foi realizada por Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com geração de hidretos. Cu e As foram determinados através de Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), nas amostras de água com concentrações muito baixas. As análises de nutrientes foram realizadas pelo Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e Ecologia Aquática da UFMG (LIMNEA-UFMG).

Foi também realizada uma caracterização granulométrica do sedimento do córrego da Mina. Para tanto, uma fração de 100 gramas de sedimento seco foi fracionado em uma sequência de peneiras com malha variando de 0,063 a 16 mm com auxílio de agitador.

Além dos dados coletados durante a realização desse trabalho, foram obtidos junto ao IGAM os dados de monitoramento do córrego da Mina do período de 2010 a 2012. Esses dados incluem análises de parâmetros físicos e químicos da água, incluindo parâmetros utilizados para o cálculo do índice de qualidade de água. Na tabela 2, estão listados os parâmetros cujos dados foram fornecidos pelo IGAM e utilizados no presente estudo.

Tabela 2- Parâmetros físicos e químicos avaliados com suas respectivas unidades e metodologia.

Parâmetros medidos *in situ*	**Metodologia**
pH, OD, Condutividade elétrica, T°C, TDS, TB,	Sonda Hydrolab
Metais em água e sedimento	
Fe, Mn, Cu, Zn, Mg, Ni, Cr, Al, Hg	ICP-OES
As	ICP-OES geração de hidretos
Nutrientes	
NH_4	Koroleff (1976)
NO_3, NO_2, Silicato	Mackereth *et al*. (1978)
P total, PO_4	Golterman *et al*. (1978)
Parâmetros complementares	
Alcalinidade	Mackereth *et al*. (1978)
Dureza total	ABNT-NBR 5761 (1984)
Fe dissolvido, Cu dissolvido, Se, Cd, coliformes termotolerantes, clorofila a, cloretos, sulfatos	Dados fornecidos pelo IGAM

TDS: sólidos totais dissolvidos; TB: turbidez; OD: oxigênio dissolvido.

2.3. Parâmetros Ecotoxicológicos

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados quinzenalmente. Foram conduzidos ensaios de toxicidade aguda e crônica com amostras de água, utilizando *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*, respectivamente, seguindo normas ABNT (2003 e 2005).

Os bioensaios de toxicidade aguda foram conduzidos em tréplicas, em copos plásticos de 50 ml contendo 20 ml da amostra de água para o grupo teste e 20 ml de água de cultivo para o grupo Controle. Foram expostos 10 organismos em cada réplica, sendo mantidos no escuro sem alimentação durante 48h. Ao final do teste, foi avaliado o número de indivíduos imóveis. Nestes bioensaios, foi considerado efeito tóxico agudo quando a mortalidade ou imobilidade dos organismos foi igual ou superior a 50% nas amostras, com mortalidade inferior a 10% no Controle. Às amostras cujo efeito agudo não foi detectado, seguiu-se os ensaios de toxicidade crônica.

Os bioensaios de toxicidade crônica foram conduzidos em copos plásticos com 20 ml de amostra de água para o grupo teste e 20 ml de água de cultivo para o grupo Controle, considerando dez réplicas contendo um único organismo. Os organismos foram alimentados no início do bioensaio e mantidos em fotoperíodo de 12 horas. A temperatura foi mantida em 25 ±1°C. A cada monitoramento, realizado em dias alternados, foram contadas e retiradas as neonatas, a água renovada e os organismos novamente alimentados. O parâmetro de avaliação foi a reprodução dos organismos ao longo de 7 dias, incluíndo três reproduções de cada organismo.

Os ensaios com amostras de sedimento (sedimento total) utilizaram como organismos-teste *Chironomus xanthus,* para ensaios de toxicidade aguda, e *Ceriodaphnia silvestrii*, para ensaios de toxicidade crônica seguindo normas USEPA (1994) e ABNT (2003; 2005). Os experimentos de toxicidade com sedimento foram conduzidos utilizando copos plásticos contendo 5 gramas de sedimento teste e 20 ml de água de cultivo totalizando 10 réplicas. Para

o grupo Controle foi utilizado sedimento dos cultivos de quironomídeos. Em relação aos bioensaios de toxicidade aguda, os organismos foram expostos individualmente e alimentados no início do experimento, sendo mantidos no escuro por 96h. Ao final do experimento, o número de indivíduos mortos foi contabilizado. Em relação aos bioensaios de toxicidade crônica, foram seguidos os mesmo procedimentos dos bioensaios com água, sendo os organismos expostos individualmente em fotoperíodo de 12h e alimentados no início e a cada monitoramento sendo realizada reposição parcial de água.

Os dados de ensaios de toxicidade crônica foram analisados através do teste de Dunnett (Dunnet, 1964; Zar, 1984; Horning & Weber, 1985; Weber, 1993) que apresenta valor de erro global que leva em consideração as múltiplas comparações com o Controle, ajustando a região de rejeição de modo que a probabilidade de detectar uma diferença estatisticamente significativa entre uma amostra e Controle seja inferior a 0,05. Para tanto, a normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilks (Weber, 1993). A homocedasticidade, ou homogeneidade de variâncias, foi avaliada por meio do teste de Barttlett (Weber, 1993).

2.4. Análise de dados utilizando ferramentas de avaliação de risco ecológico

Os dados físicos e químicos foram analisados através de uma análise de componentes principais (PCA) para avaliar a distribuição dos pontos em relação ao período de estudo e sua relação com a variação climatológica.

Utilizando uma abordagem de avaliação de risco, utilizou-se um protocolo de avaliação de risco ecológico adaptado de Tallini *et al*. (2012) para avaliar as linhas de evidência química e ecotoxicológica de risco.

Para tanto, foi utilizado o conceito de Unidade Potencial Tóxica (UPT) que leva em consideração a razão entre a concentração do metal no ambiente e o limite determinado pela

legislação, pelas resoluções do CONAMA n°357, para considerar as amostras de água, e CONAMA n°344, para as amostras de sedimento. O valor obtido desta razão foi classificado em três classes de qualidade ambiental (QA), Ótima, Alerta e Crítica (Tabela 3). Considerando que o córrego da Mina é classificado como classe 2 segundo dados do IGAM, os níveis utilizados referem-se aos determinados para classe 2, dessa forma, não separando as UPTs em crônica e aguda, ficando essa distinção por conta dos ensaios ecotoxicológicos.

Os resultados de toxicidade também foram divididos em três classes de qualidade ambiental, onde ausência de efeito indicou qualidade Ótima, presença de efeito crônico indicou Alerta e presença de efeito tóxico agudo indicou qualidade Crítica (Tabela 3). Após a classificação da qualidade da água e sedimento de cada amostra, seguiu-se a avaliação de risco através do compilamento dos dados para análise da frequência da qualidade ambiental de cada parâmetro.

Adicionalmente, o procedimento realizado para metais foi aplicado aos dados físicos e químicos da água obtidos por meio da sonda multiparâmetros e dos dados de nutrientes. Essa análise justificou-se por levar em consideração que alguns desses parâmetros normalmente são utilizados no cálculo dos tradicionais índices de qualidade de água (IQA) e o córrego da Mina apresenta IQA baixo, segundo dados do relatório do Instituto de Gestão de Águas de Minas Gerais (SEMAD, 2013).

Para validação desses resultados, foram utilizados dados biológicos e ecotoxicológicos de solo de estudos realizados em conjunto com o presente trabalho pelo grupo INCT-Acqua (Alves e Rietzler, 2013; Franco *et al*., 2013; Reis *et al*., 2013) e dados fornecidos pelo IGAM.

Tabela 3- Critérios de qualidade ambiental para as linhas de evidência química, biológica e ecotoxicológica (adaptado de Tallini *et al*., 2012).

Água superficial		
UPT	**Critério de corte**	**Classe de qualidade ambiental**
< 0,5	CONAMA 357 Classe 2	Ótima
entre 0,5 e 1,0		Alerta
> 1		Crítica
Sedimento		
UPT	**Critério de corte**	**Categoria de qualidade ambiental**
< 0,5	CONAMA 344 Nível 1	Ótima
entre 0,5 e 1,0		Alerta
> 1		Crítica
Ensaios ecotoxicológicos		
UPT	**Critério de corte**	**Categoria de qualidade ambiental**
Ausência	Toxicidade	Ótima
Crônica		Alerta
Aguda		Crítica

* Os valores referentes às UPTs biológicas referem-se aos dados de densidade de coliformes termotolerantes fornecidos pelo IGAM.

3. Resultados

Durante o período de estudo, foram observadas duas estações bem definidas, uma estação chuvosa, abrangendo o período de outubro a março, e outra estação seca, incluindo o período de final de abril a início de setembro (Figura 2). A PCA demonstrou que as amostras tem características distintas entre os diferentes períodos (Figura 3).

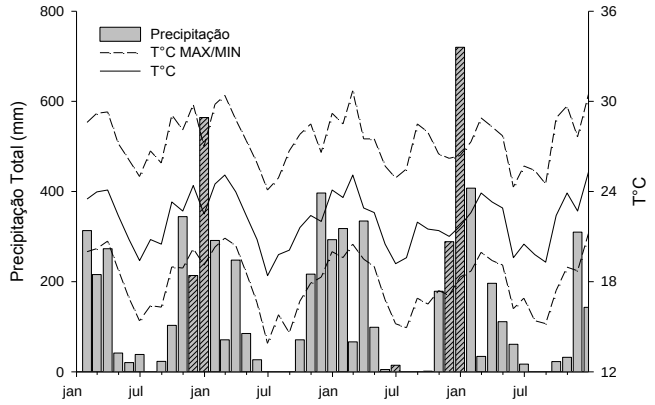

Figura 2- Dados de precipitação (total mensal) e temperatura (média, máxima e mínima) da área de estudo de janeiro de 2009 a dezembro de 2012.

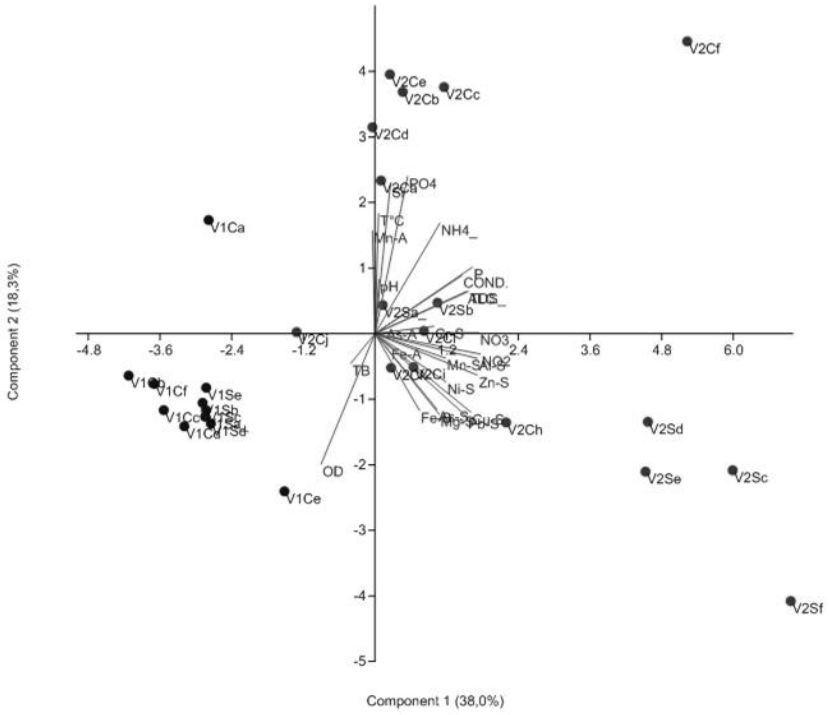

Figura 3- Análise de componentes principais dos córregos Mutuca (V1) e da Mina (V2) destacando os períodos chuvoso (C) e seco (S).

Em relação aos parâmetros medidos *in situ* (Tabela 4), verificou-se variação nos valores de temperatura da água, condutividade elétrica e turbidez no ponto do Córrego da Mina coincidindo com variações climatológicas, o mesmo não ocorrendo no córrego Mutuca, localizado em uma área de represamento, com pouca interferência externa.

Não foi verificada grande variação dos valores de pH entre os dois períodos de coleta, os quais foram mais baixos no Córrego Mutuca (5,2 – 6,9), comparados aos valores encontrados no córrego da Mina (6,0 – 7,6).

Os valores de condutividade no córrego da Mina foram bastante elevados, acima de 1500 $\mu S.cm^{-1}$ na maioria das amostras, contrastando com a baixa condutividade do córrego Mutuca que não ultrapassou 22 $\mu S.cm^{-1}$. Além disso, foram verificadas elevadas concentrações de sólidos totais dissolvidos, e elevada turbidez e dureza, principalmente relacionada aos íons cálcio. Contudo, a turbidez foi mais elevada no córrego Mutuca durante o período chuvoso (Tabela 4). A concentração de nutrientes no córrego da Mina foi superior às detectadas no Mutuca e variou de cinquenta vezes para nitratos e amônia a quatrocentas vezes para nitritos entre os diferentes períodos de estudo (Tabela 5).

O córrego da Mina apresentou elevadas concentrações de ferro, manganês, cobre, zinco e arsênio na água. Dentre os metais dissolvidos, os valores de manganês, ferro e magnésio, não ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação. No sedimento, foram detectadas altas concentrações de ferro, manganês, zinco, alumínio, chumbo, magnésio, níquel, cromo, cádmio, cobre e arsênio, sendo que os três últimos estiveram acima dos valores estabelecidos pela legislação para nível 2. O córrego Mutuca apresentou valores de ferro e zinco na água abaixo dos valores definidos pela legislação. Porém, no sedimento, apresentou elevadas concentrações de cobre, tendo ultrapassado em alguns momentos, os limites estabelecidos para nível 1 (Tabelas 6 e 7). Os metais em sedimento corresponderam à fração de 2 mm que representou mais de 98% do sedimento total de ambos os córregos estudados. O córrego Mutuca, embora tenha apresentado quase 50% da fração silte mais argila, apresentou pequena fração de cascalho (Figura 4).

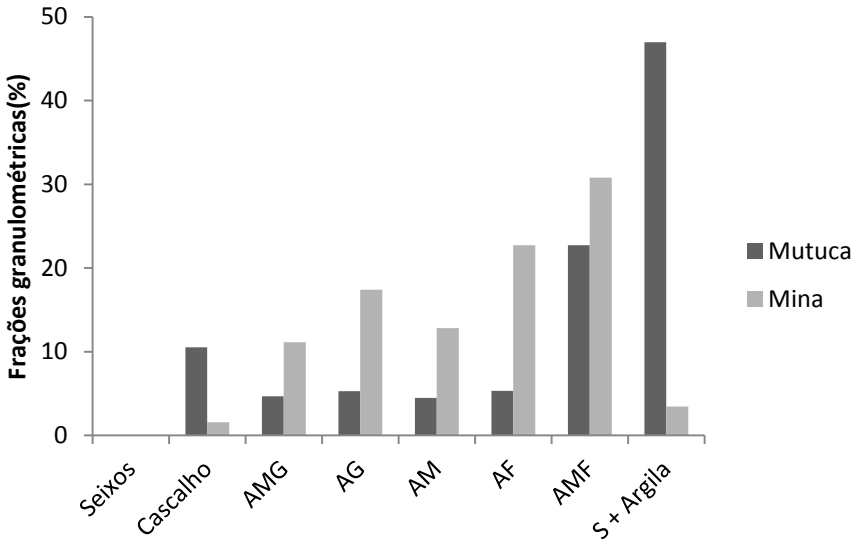

Figura 4- Granulometria do sedimento do córrego da Mina e do córrego Mutuca (AMG: Areia muito grossa; AG: Areia grossa; AM: Areia média; AF: Areia fina; AMF: Areia muito fina; S: Silte).

Tabela 4 - Valores médios, máximos e mínimos dos parâmetros físicos e químicos dos córregos da Mina e Mutuca, nos períodos de seca e chuva de 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação.

	Córrego da Mina						Córrego Mutuca						CONAMA 357	
	Período Chuvoso			Período seco			Período Chuvoso			Período seco			Classe	
	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	2	3
pH	6,00	6,84	7,59	5,98	6,20	6,51	5,75	6,39	6,94	5,16	6,01	6,96	6,0 - 9,0	
Condutividade ($\mu m.cm^{-1}$)	1307,00	1658,45	1966,00	2100,00	2293,17	2500,00	16,00	16,40	18,00	16,00	16,20	17,00	*	*
Alcalinidade (meq. $CO_2.L^{-1}$)	0,34	0,44	0,55	0,27	0,41	0,47	0,12	0,17	0,20	0,12	0,17	0,20	*	*
Dureza ($mg.L^{-1}$ de $CaCO_3$)	940,00	1125,00	1300,00	1150,00	1243,33	1400,00	7,80	10,00	12,00	6,00	7,50	8,00	*	*
TDS ($g.L^{-1}$)	0,80	1,05	1,30	1,30	1,47	1,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,5	0,5
T°C	22,35	24,08	26,00	17,62	18,55	19,58	20,46	20,77	20,99	19,70	20,02	20,39	*	*
OD (mg.L-1)	6,52	8,24	10,51	8,10	8,76	9,08	10,43	10,50	10,57	9,22	9,28	9,42	> 5	> 2
Turbidez (NTU)	0,17	10,31	69,10	20,70	23,05	26,80	0,00	77,56	195,10	18,90	20,06	21,00	100	100

* Limites não estabelecidos

Tabela 5- Valores médios, máximos e mínimos de nutrientes dos córregos da Mina e Mutuca nos períodos de seca e chuva de 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação.

	Córrego da Mina						Córrego Mutuca						CONAMA 357*	
	Período chuvoso			Período seco			Período chuvoso			Período seco			Classe	
	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	2	3
NH_4 ($\mu g.L^{-1}$)	174,94	474,43	1387,11	258,80	444,04	829,50	2,22	8,52	16,06	2,62	8,29	11,26	3,70	13,30
NO_2 ($\mu g.L^{-1}$)	2,07	20,48	54,14	16,13	44,26	55,56	0,05	0,19	0,28	0,08	0,11	0,15	1,00	1,00
NO_3 ($\mu g.L^{-1}$)	166,21	225,89	305,97	310,39	419,64	531,34	2,79	4,17	5,29	45,02	46,62	49,75	10,00	10,00
P total ($\mu g.L^{-1}$)	40,40	68,10	135,94	61,37	77,71	89,00	6,94	11,14	15,78	2,27	3,12	4,12	0,10	0,15
PO_4 ($\mu g.L^{-1}$)	1,70	8,15	17,14	1,49	2,71	3,52	0,92	1,23	1,51	0,62	1,48	2,50	*	*
Si ($mg.L^{-1}$)	0,01	2,13	4,77	0,30	0,48	0,62	0,09	0,11	0,12	0,16	0,32	0,75	*	*

Tabela 6- Valores médios, máximos e mínimos de metais totais e dissolvidos (entre parênteses) na água ($mg.L^{-1}$) nos córregos da Mina e Mutuca nos dois períodos de estudo em 2010 e 2011, e limites estabelecido pela legislação para as diferentes classes.

	Córrego da Mina						Córrego Mutuca						CONAMA 357	
	Período Chuvoso			Período seco			Período Chuvoso			Período seco			Classes	
	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	1 e 2	3 e 4
As	0,03	0,04	0,05	0,02	0,08	0,19	<0,01	<0,01	<0,01	<0,0004	0,0002	0,0007	0,01	0,33
Fe	0,18	0,05	6,58	0,20	0,34	0,52	0,03	0,04	0,06	0,02	0,08	0,20	*0,30	*5,00
Mn	0,50	0,86	1,84	0,37	0,81	1,45	<0,05	<0,05	<0,05	<0,006	<0,006	<0,006	0,10	0,50
Cu	0,07	0,08	0,09	0,18	0,19	0,21	<0,01	<0,01	<0,01	<0,004	<0,004	<0,004	*0,009	*0,013
Zn	0,06	0,09	0,14	0,07	0,11	0,21	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	0,05	0,05	0,18	5,00
Cr	<0,05	<0,05	<0,05	0,00	0,01	0,02	<0,05	<0,05	<0,05	<0,002	<0,002	<0,002	0,05	0,05
Cd	<0,003	<0,003	<0,003	0,00	0,00	0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,01
Ni	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	0,03	0,07	<0,01	<0,01	<0,01	<0,004	<0,004	<0,004	0,025	0,025
Pb	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	0,010	0,033
Al	<0,1	<0,1	<0,1	0,06	0,15	0,31	<0,05	<0,05	<0,05	<0,005	0,004	0,02	0,1	0,2
Mg	15,36	21,57	34,26	26,80	36,97	53,76	0,87	0,89	0,92	0,95	0,97	0,99	**	**

* Limites de concentrações para metais dissolvidos; ** Limites não estabelecidos pela legislação.

Tabela 7- Valores médios, máximos e mínimos de metais biodisponíveis no sedimento ($mg.Kg^{-1}$) nos córregos da Mina e Mutuca nos dois períodos de estudo em 2010 e 2011 e limites estabelecidos pela legislação para os níveis 1 e 2.

	Córrego da Mina						Córrego Mutuca						CONAMA 344*	
	Período chuvoso			Período seco			Período chuvoso			Período seco			Nível	
	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	Média	Máx	1	2
As	19,83	67,74	297,10	90,34	269,60	472,81	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	5,90	17,00
Cu	18,65	147,30	387,69	120,88	693,14	1468,43	13,44	52,41	165,13	24,90	51,95	74,17	35,70	197,00
Pb	3,70	6,57	10,68	5,17	9,68	13,18	1,73	4,76	8,20	3,71	3,76	3,82	35,00	91,30
Zn	42,44	83,78	180,94	95,90	195,90	303,83	39,52	50,02	77,78	22,82	32,47	40,36	123,00	315,00
Ni	2,59	12,08	24,96	7,08	14,69	22,31	0,44	5,48	20,15	<2,50	<2,50	<2,50	18,00	35,90
Cr	2,14	6,18	17,26	2,05	9,72	19,12	1,91	1,91	1,91	<2,50	<2,50	<2,50	37,30	90,00
Cd	-	-	-	1,32	2,44	3,55	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	0,60	3,50
Fe	492,80	1878,63	6608,30	151,23	2375,74	12350,47	388,61	1836,20	3325,12	64,16	116,40	163,38	**	**
Mn	177,17	403,13	1284,46	390,73	623,75	1002,00	43,58	364,99	803,02	291,73	353,36	395,13	**	**
Mg	52,35	136,23	268,91	-	-	-	16,18	80,27	186,58	<2,50	<2,50	<2,50	**	**
Al	396,86	1045,74	2343,13	834,95	2393,54	4143,60	199,23	417,35	785,28	214,12	335,81	416,75	**	**

*Os valores da legislação referem-se a metais totais; **Não há valores de limites estabelecidos pela legislação.

Em relação aos ensaios ecotoxicológicos, foi verificado efeito de toxicidade crônica em quase todas as amostras de água do córrego da Mina e efeito de toxicidade aguda para uma amostra no período seco (Figura 5), enquanto no córrego Mutuca, efeito de toxicidade crônica foi observado em apenas uma amostra no mesmo período. Em relação ao sedimento, não foi verificado efeito de toxicidade aguda nas amostras de sedimento utilizando *Chironomus xanthus*. Por outro lado, apenas em uma amostragem não foi detectado efeito de toxicidade crônica nos córregos demonstrando a fragilidade dos ecossistemas estudados.

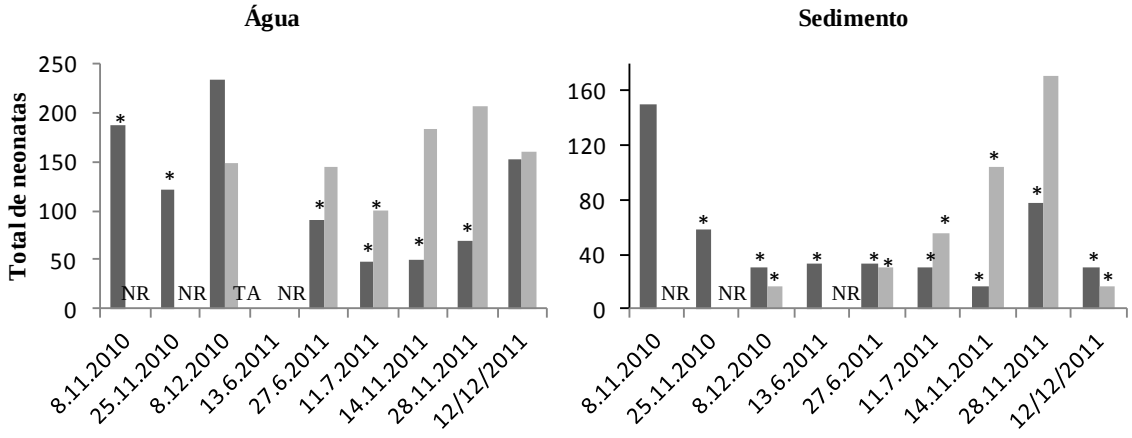

Figura 5- Ensaios ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do córrego da Mina (barras escuras) e do córrego Mutuca (barras claras). O símbolo * indica efeito crônico e **TA** indica efeito agudo (NR: Não conduzidos bioensaios com amostras do Mutuca).

Ainda em relação aos ensaios ecotoxicológicos, o maior percentual de qualidade ambiental se enquadrou na classe Alerta, tanto para água quanto para sedimento nos dois períodos de estudo, sendo corroborado pelos dados do IGAM para o córrego da Mina. No período seco, houve efeito de toxicidade aguda caracterizando pequeno percentual da classe Crítica. Ao contrário, considerando a linha de evidência biológica cujo parâmetro utilizado foi densidade de coliformes termotolerantes, a classe Crítica dominou 100% das amostras analisadas tanto no período chuvoso quanto no período seco. No córrego Mutuca, a categoria

de QA Ótima prevaleceu nos dois períodos de estudo para água, enquanto a categoria Alerta foi dominante para sedimento (Figura 6).

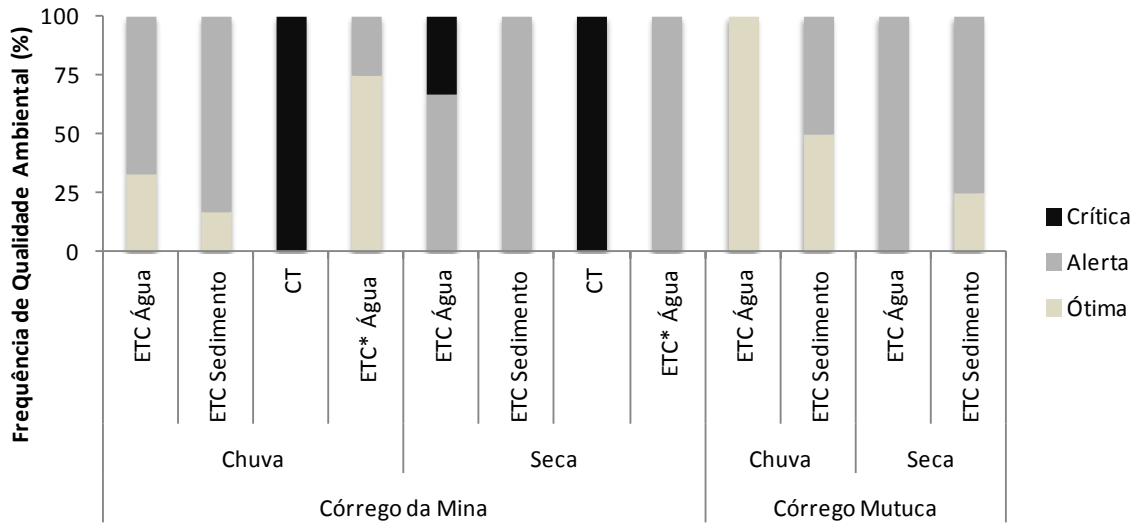

Figura 6- Frequência de Qualidade Ambiental considerando as linhas de evidência ecotoxicológica dos córregos da Mina e Mutuca (ETC: Ensaio de Toxicidade Crônica) e biológica (CT: Coliformes Termotolerantes – Fonte de dados: IGAM). ETC * refere-se aos bioensaios conduzidos pelo IGAM em seu monitoramento anual.

Em relação às linhas de evidência química, dos nove metais detectados, As e Cu foram os que mais contribuíram para redução da qualidade ambiental, estando o As enquadrado 100% na classe crítica nos dois períodos de estudo no córrego da Mina (Figura 7). O cobre, correspondendo apenas à fração dissolvida, apresentou frequência de 100% da classe crítica, contrastando com o ferro que apresentou 45% de frequência Crítica quando considerado em sua totalidade e 100% da classe Ótima quando considerado apenas a fração dissolvida. Cromo, chumbo e cádmio estiveram bem abaixo do limite da legislação, apresentando 100% de qualidade ambiental Ótima (Figura 6). O córrego Mutuca apresentou 100% de frequência Ótima para todos os metais em água.

Em relação ao sedimento, assim como para a água, os contaminantes que mais contribuíram para redução da qualidade ambiental foram arsênio e cobre no córrego da Mina. Cádmio, embora tenha sido enquadrado na classe Crítica no período seco, foi analisado com base em duas amostras apenas. Zinco, seguindo a tendência para água, apresentou pequena

frequência distribuída nas três classes de qualidade ambiental (Figura 8). Para o córrego Mutuca, cobre foi o principal responsável pela redução de qualidade ambiental, se enquadrando na categoria de QA Crítica tanto no período chuvoso (40%) quanto no período seco (80%).

Em relação aos demais parâmetros do córrego da Mina, cujos dados foram fornecidos pelo IGAM, somente os sulfatos apresentaram 100% de frequência de qualidade ambiental enquadrada na classe Crítica para os dois períodos. Outros parâmetros que contribuíram para redução da qualidade ambiental foram fósforo total, selênio e DBO (Figura 9).

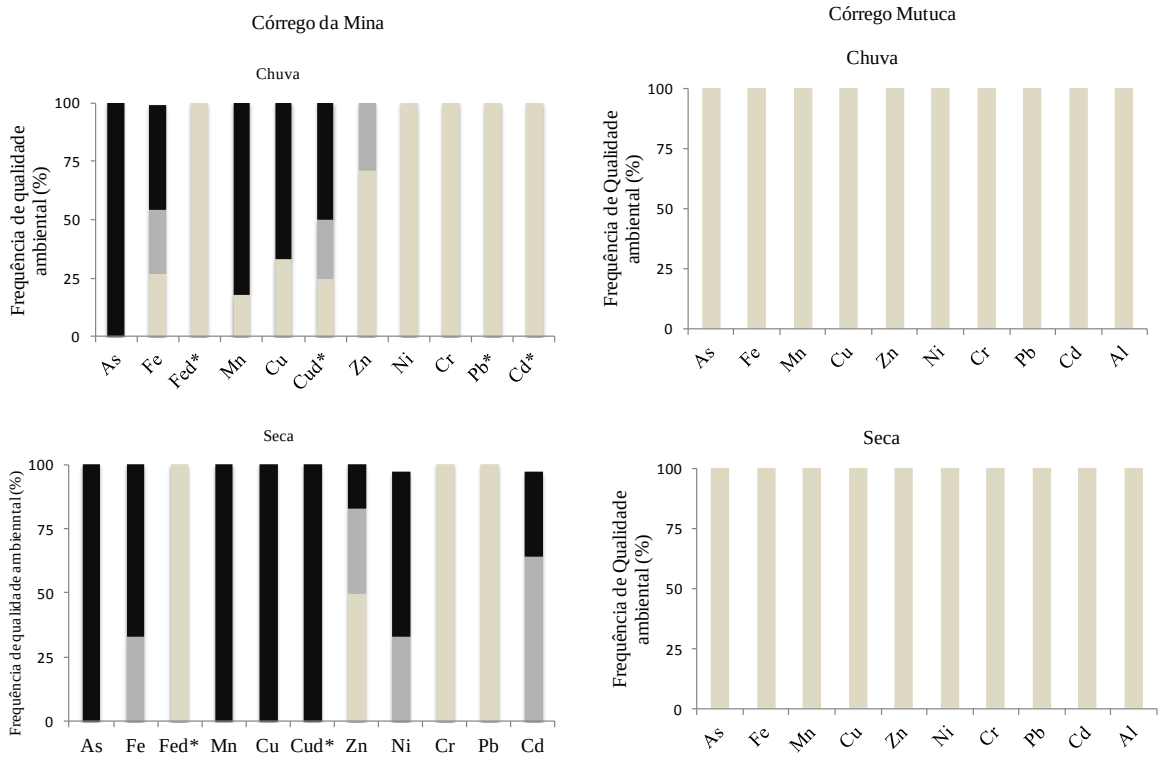

Figura 7- Frequência de Qualidade Ambiental de metais em água no período chuvoso e seco nos córregos da Mina e Mutuca (Categoria Crítica (barras críticas), Categoria Alerta (barras cinzas) e Categoria Ótima (barras claras); *Frequências obtidas a partir de dados fornecidos pelo IGAM; d: metal dissolvido).

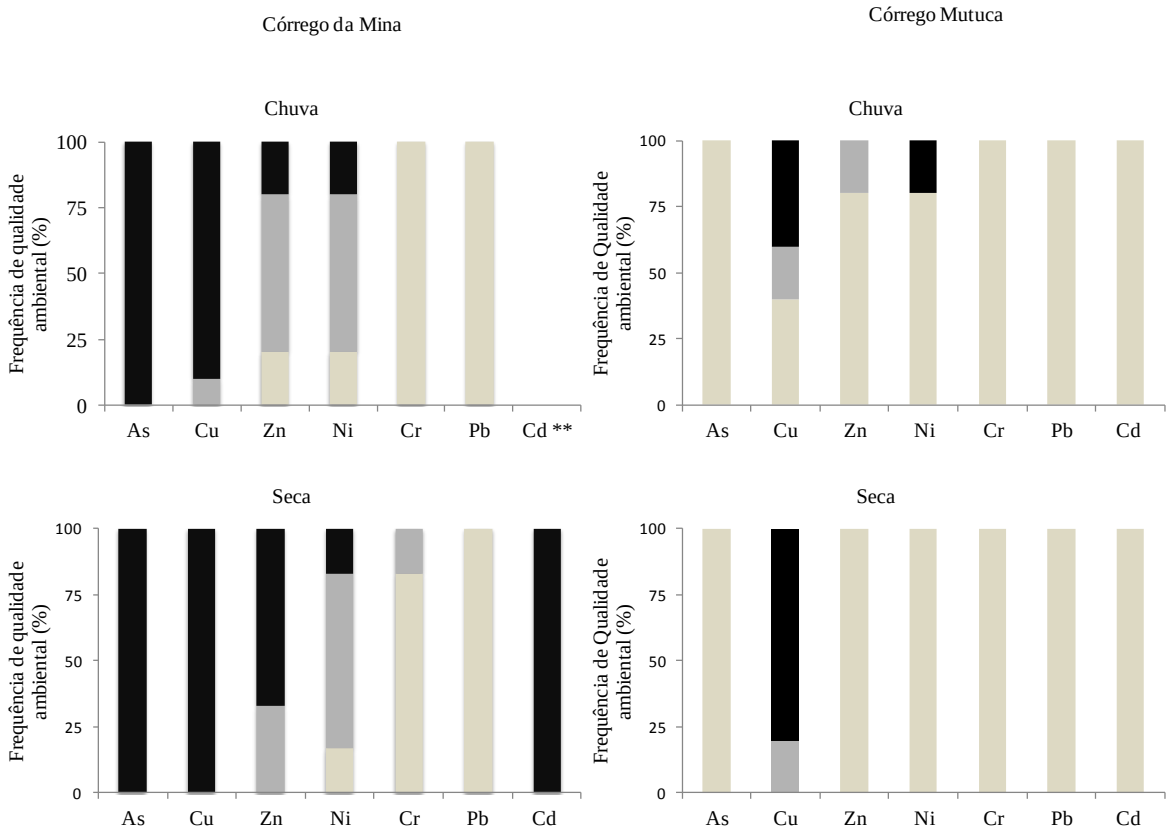

Figura 8- Frequência de Qualidade Ambiental de metais em sedimento no período chuvoso e seco nos córregos da Mina e Mutuca (Categoria Crítica (barras críticas), Categoria Alerta (barras cinzas) e Categoria Ótima (barras claras); *Limite de detecção <0,05; ** Concentrações detectadas em apenas duas amostras).

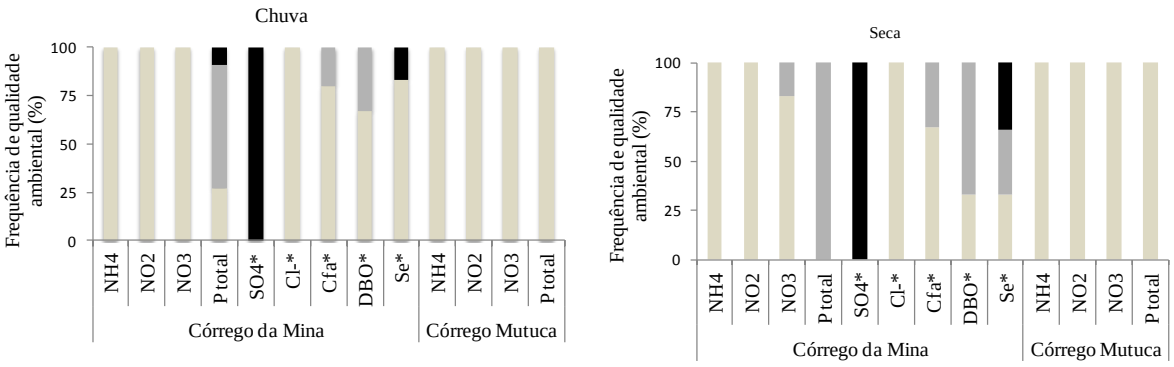

Figura 9- Frequência de Qualidade Ambiental de nutrientes dos córregos da Mina e Mutuca e de sulfatos, cloretos, clorofila a (Cfa), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e selênio do córrego da Mina no período chuvoso e seco (Categoria Crítica (barras críticas), Categoria Alerta (barras cinzas) e Categoria Ótima (barras claras); *Parâmetros cujos dados foram fornecidos pelo IGAM).

4. Discussão

A atividade de mineração tem grande impacto no ambiente, principalmente através da liberação de metais que pode estar relacionada à drenagem ácida de mina, típica de ambientes de mineração de ouro ou mesmo vazamentos de rejeitos das bacias de contenção (Salomons, 1995). Os metais estão entre os contaminantes mais persistentes no ambiente por serem bioacumulados pelos organismos (Field, 2012).

Nesse sentido, monitorar a área de entorno das atividades de mineração e bacias de contenção é fundamental para proteção dos ecossistemas, principalmente considerando que uma vez liberados em ambientes aquáticos, os metais podem alcançar áreas além da fonte contaminante (Palmer *et al.*, 2010).

No período chuvoso, foram observadas altas concentrações de formas nitrogenadas, principalmente amônia, a qual pode ser tóxica e reduzir a capacidade de competição de alguns organismos de água doce, como observado por Sarma *et al.* (2003) em estudo com *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia pulex* expostas à concentrações de 100 $mg.L^{-1}$ de amônia. Todavia, as concentrações de amônia que afetaram o crescimento destas espécies, foram superiores aquelas detectadas nos dois córregos.

Os elevados valores de condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos verificados no Córrego da Mina são típicos de ambientes eutrofizados, já que este córrego recebe efluentes tanto da barragem quanto de esgoto doméstico da comunidade local (SEMAD, 2004). O alto grau de trofia foi corroborado pelas elevadas concentrações de nutrientes, principalmente quando comparadas ao córrego Mutuca.

A presença de sulfatos acima de 250 $mg.L^{-1}$, caso do córrego da Mina, indicou também contaminação por efluentes domésticos e industriais, reduzindo a qualidade de água para abastecimento. Além disso, considerando que a dureza total é devida principalmente aos

íons cálcio, a elevada concentração de magnésio pode estar relacionada à presença de seus sulfatos, que contribuem para redução da qualidade ambiental.

O Córrego da Mina, localizado a jusante de uma bacia de contenção, apresenta um histórico de elevada contaminação de arsênio (Borba *et al.*, 2000; SEMAD, 2004). A concentração deste ametal permanece em níveis acima da legislação tanto para água quanto para sedimento. Por outro lado, não foi constatada influência de drenagem ácida no córrego pela planta de beneficiamento de minério de ouro a montante. Entretanto, o constante monitoramento do pH é necessário, já que a alcalinidade deste local é relativamente baixa.

Outro fator importante a ser levado em consideração é a sazonalidade, uma vez que o Córrego da Mina se encontra a jusante da barragem de contenção, que em períodos chuvosos pode não suportar o aporte de água pluvial e liberar maior descarga de efluentes. Segundo Azam e Li (2010), 40% das falhas de barragens de contenção estão associadas a eventos de precipitação intensa.

O efeito crônico verificado nas amostras de água e sedimento do córrego da Mina coincidiu com elevadas concentrações de metais totais na água e biodisponíveis no sedimento, destacando-se arsênio, cobre, chumbo, zinco, níquel e cromo, além de elevadas concentrações de ferro e manganês, estes últimos, encontrados naturalmente em abundância no solo da região. É importante ressaltar que embora os bioensaios com amostras de sedimento tenham sido conduzidos com sua fração total, os metais biodisponíveis corresponderam à 98% do sedimento total. A elevada porcentagem de areia fina indica presença de impacto antrópico no córrego. A granulometria do sedimento do córrego Mutuca, com mais de 50 % constituído de areia muito fina e argila, característico de ambientes modificados, pode adsorver mais fortemente os metais, o que justificaria a não detecção de Cu em água.

Considerando metais dissolvidos, o córrego da Mina apresentou elevada contaminação por cobre. Por outro lado, a presença de ferro dissolvido pode aumentar a toxicidade de

arsênio. Sales e Rietzler (dados não publicados), avaliando o potencial tóxico de arsênio V e sua interação com íons férricos à *D. similis* e *C. silvestrii*, verificaram que o ferro em baixas concentrações potencializava a toxicidade de arsênio, enquanto que em altas concentrações seu efeito era inerte, provavelmente devido à sua solubilização. Franco (dados não publicados) observou em estudos com cianobactérias, que a adsorção desse ametal pela parede celular era potencializada na presença de ferro.

Verslycke *et al* (2003), ao avaliarem efeitos de toxicidade por metais, detectaram efeito de toxicidade aditivo nas misturas com Hg, Cd, Cu, Zi, Ni e Pb no camarão *Neomysis integer*. Pery *et al.* (2008), verificaram bioacumulação de metais e redução no crescimento de *Chironomus riparius* na presença de cobre (12 e 25 $mg.Kg^{-1}$), zinco (20 e 40 $mg.Kg^{-1}$) e cádmio (0,5 e 1 $mg.Kg^{-1}$) isolados e em misturas binárias, tendo o cádmio, papel mais relevante. No córrego da Mina, foram detectados valores muito acima dessas concentrações. Contudo, o efeito crônico observado pode estar relacionado à elevada dureza deste ambiente, uma vez que os íons cálcio podem atuar como agentes quelantes.

Por outro lado, a baixa razão entre metais em água e metais em sedimento pode estar relacionada à adsorção de metais pelo ferro e manganês presentes em elevadas concentrações. Vasconcelos *et al* (2004), avaliando especiação de arsênio em um córrego próximo a área do presente estudo, verificaram forte adsorção deste ametal pela pilha de rejeitos, constituídas principalmente por hidróxidos de ferro. Sundaray *et al* (2011), também verificaram que complexos de oxi-hidróxidos de Fe-Mn atuavam como adsorventes de metais pesados, à exceção do cobre cuja matéria orgânica foi a principal responsável por sua imobilização.

Cooper *et al.* (2009) avaliando a toxicidade de cobre, zinco e chumbo às espécies *Daphnia carinata* e *Ceriodaphnia dubia*, espécies congêneres das utilizadas neste estudo, verificaram efeitos sinérgicos na misturas destes metais. Neste estudo, os valores de CE50 obtidos para zinco, cobre e chumbo, foram respectivamente, 0,174, 0,018 e 0,209 $mg.L^{-1}$ para

C. dubia e 0,34, 0,037 e 0,444 $mg.L^{-1}$ para *D. carinata.* Neste mesmo trabalho, foi verificado efeito de toxicidade crônica para *C. dubia* em baixas concentrações de zinco (0,025 $mg.L^{-1}$), cobre (0,0026 $mg.L^{-1}$), e chumbo (0,004 $mg.L^{-1}$).

As concentrações para os mesmos metais encontrados no Córrego da Mina ultrapassaram esses valores. As concentrações de cobre na água, no córrego da Mina, estiveram acima de 0,05 $mg.L^{-1}$, valores esses relacionados a inibição de crescimento de *Daphnia magna* (Pedrozo e Lima, 2001), o que demonstra a fragilidade do ecossistema estudado.

Contudo, os resultados dos ensaios ecotoxicológicos, indicaram que o sedimento também atuou como fonte de contaminantes. O próprio manganês em elevadas concentrações pode ser tóxico, assim como o alumínio e ferro, outro metal com concentrações bem elevadas no sedimento dos dois córregos (Guzmán *et al.*, 2010).

As concentrações de As, Cu e Cd no córrego da Mina, corresponderam às concentrações destes mesmos elementos em uma mina abandonada na antiga área de mineração do Lousal, em Portugal, onde foram observados impactos negativos nas comunidades de diatomáceas (Luis *et al.*, 2011).

A grande variação da concentração de metais nos sedimentos entre diferentes períodos pode estar relacionada com o carreamento de sedimento devido a eventos pluviais. Além disso, as alterações provocadas pela chuva podem provocar a ressuspensão de sedimentos mais antigos, levando a liberação destes para ao ambiente.

O magnésio esteve presente em elevadas concentrações na água e sedimento dos dois córregos. Ele pode ser extremamente tóxico a diferentes espécies de água doce (Van Dam *et al.;* 2010; Hogan *et al.*, 2013) e está fortemente relacionado ao cálcio que atua reduzindo a toxicidade deste metal. Dessa forma, sua toxicidade pode estar sendo reduzida no córrego da Mina, já que a dureza elevada é influenciada principalmente pela presença de cálcio. Isso

também justificaria a presença de efeito crônico observada em uma amostra de água do córrego Mutuca.

Estudos realizados em conjunto com o presente trabalho corroboram a baixa qualidade ambiental do córrego da Mina. Franco *et al*. (2013), verificaram baixa diversidade de copépodos e cladóceros e predomínio de rotíferos e protozoários, grupos característicos de ambientes ricos em matéria orgânica, enquanto no córrego Mutuca verificaram elevada diversidade de grupos típicos de ambientes preservados. Reis *et al*. (2013), encontraram no córrego da Mina, uma diversificada comunidade bacteriana resistente a arsênio. Alves e Rietzler (2013) verificaram elevadas concentrações de metais e arsênio no solo às margens do córrego da Mina e efeitos de toxicidade crônica à *Eisenia Andrei*, sendo o oposto observado próximo ao córrego Mutuca.

Avaliando-se o córrego da Mina sob a abordagem da avaliação de risco ecológico foi possível verificar que a redução da qualidade ambiental decorreu principalmente da presença de elevadas concentrações de metais, arsênio e contaminantes a eles relacionados, como os sulfatos. Embora encontradas altas concentrações de nutrientes, coliformes termotolerantes e elevada DBO, parâmetros relacionadas à eutrofização e que também contribuem para redução da QA, sua relevância geral é menor.

Lopes *et al*. (2010) analisando pelotas fecais e penas de pássaros insetívoros, verificaram que os regurgitados das populações próximas a uma área de mina de cobre apresentavam elevadas concentrações de arsênio e diferentes metais em comparação a uma população distante da área contaminada. Isso aponta para a importância do desenvolvimento de índices que levem em consideração metais, em detrimento daqueles que utilizam apenas parâmetros relacionados à trofia.

Em relação à QA sob o ponto de vista ecotoxicológico, a dominância da classe Alerta indicou que o ambiente necessita de medidas de mitigação de impactos, principalmente

considerando que é afluente de um importante rio da bacia do São Francisco, o rio das Velhas. O córrego Mutuca, em geral, apresentou boa qualidade de água, embora o sedimento inspire cuidados, uma vez que as concentrações de cobre e níquel verificadas, ultrapassaram limites estabelecidos pela legislação. Esses valores, entretanto, podem estar relacionados ao fato de que esse sedimento não apresenta mobilidade já que a área está localizada em um pequeno represamento.

Em síntese, o córrego da Mina apresentou elevadas concentrações de metais totais na água (Mn, As, Fe e Cu) e biodisponíveis no sedimento (Mn, As, Fe, Cu, Mg e Al). Os resultados de toxicidade crônica obtidos sugerem a ocorrência de efeito antagônico entre os diferentes contaminantes no córrego da Mina, principalmente considerando que as concentrações de muitos metais ultrapassaram às suas unidades tóxicas agudas determinadas em vários estudos com mistura de metais (Pery *et al.*, 2008; Cooper *et al.*, 2009; Guzmán *et al.*, 2010; Rozon-Ramilo *et al.*, 2011). Essa redução da toxicidade pode estar relacionada à presença de cálcio atuando como agente quelante. Em relação ao córrego Mutuca, a qualidade de água pode ser comprometida pela liberação de contaminantes do sedimento, o que justificaria a reinclusão desse ponto na rede de monitoramento do IGAM.

5. Conclusões

O córrego da Mina, influenciado diretamente pela atividade de beneficiamento de ouro, apresentou elevada contaminação de metais na água e principalmente no sedimento. As concentrações de cobre, manganês, ferro e zinco dissolvidos ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação. Embora não tenha sido verificado efeito de toxicidade aguda à *Chironomus xanthus*, a alta concentração de metais biodisponíveis no sedimento, associada aos efeitos crônicos observados, demonstrou o potencial do sedimento como fonte constante de contaminantes.

A ausência de toxicidade aguda no córrego da Mina indicou efeito antagônico entre contaminantes, uma vez que as concentrações de metais verificadas estiveram acima dos valores de unidades tóxicas agudas obtidos na literatura. Por outro lado, a redução da toxicidade de metais pode também estar associada à presença de agentes quelantes como íons cálcio.

A sazonalidade teve grande influencia na concentração de metais e nutrientes, principalmente na água. Dessa forma, a barragem de contenção pode ter ação direta no córrego a jusante.

Em relação ao córrego Mutuca, a boa qualidade de água observada contrastou com a contaminação do sedimento por metais e efeitos de toxicidade crônica. A reinclusão desse ponto, excluído desde 2004, na rede de monitoramento do IGAM é fundamental para preservar a qualidade ambiental e a saúde da população abastecida pela água desse córrego.

Por outro lado, as elevadas concentrações de ferro e manganês no córrego Mutuca mostraram que esses metais são naturalmente comuns na região e possivelmente contribuem para redução da disponibilidade de metais devido à adsorção.

A atividade de beneficiamento de ouro indicou estar diretamente relacionada aos elevados níveis de arsênio encontrados no sedimento e na água do Córrego da Mina. Assim, nas atividades de mineração, o monitoramento dos ambientes aquáticos da área de entorno é, sem dúvida, fundamental para a manutenção da saúde destes ecossistemas.

Além disso, ensaios ecotoxicológicos são importantes complementos para dados obtidos através de análises químicas e físicas, levando em consideração a interação entre os diferentes contaminantes. A abordagem de avaliação de risco ecológico se mostrou eficiente na avaliação da contribuição de diferentes parâmetros na qualidade ambiental do córrego da Mina.

6. Referências Bibliográficas

ABNT. 1984. Determinação da dureza em água (Método complexométrico). NBR 5761. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 3

ABNT 2005. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera).NBR 13373. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 14

ABNT. 2003. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). NBR 12713, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 19.

Almeida, C. A. 2007. Aspectos do ciclo de vida de espécies bent6onicas nativas e sua utilização na avaliação da qualidade de sedimentos de lagos naturais e reservatórios. Escola de Engenharia de São Carlos, São Paulo.181p. Doutorado

Alves, RH.; Rietzler, AC. 2013. Ecotoxicological assessment of soils around mining areas Annual Activity Report 2011-2012. 47-48. ISSN: 2179-2771.

ANA 2006. Agência Nacional de Águas (Brasil). A gestão dos recursos hídricos e a mineração. Coordenação-Geral das Assessorias, Instituto Brasileiro de Mineração ; organizadores, Antônio Félix Domingues, Patrícia Helena Gambogi Boson, SuzanaAlípaz. Brasília, ANA, 334p.

Azam, S and Li, Q. 2010. Tailings Dam Failures: A Review of the Last One Hundred Years. Geotechnical News. December.

Borba, R. P.; Figueiredo, B. R.; Rawlins, B.; Matschullat, J. 2004. Arsenic in water and sediment in the iron quadrangle, state of Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Geociências, 30(3):558-561.

Borba, RP; Figueiredo, BR; Barry, R e Matschullat, J. 2000. Arsenic in water and sediment in the Iron Quadrangle, state of Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Geociências. 30(3):558-561.

Cooper, N. L.; Bidwell, J. R.; Kumar, A. 2009. Toxicity of copper, lead and zinc mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1523–1528.

Dunnett, C. W. "New Tables for Multiple Comparisons with a Control". Biometrics, 1964, 20 (3) 482-491.

EPS – Environmental Protection Series. 1997. Biological Test Method: Test for survival and growth sediment using the larvae of freshwater midge (*Chironomus tetans* and *Chironomus riparius*). Ottawa, Ontário, 150p.

Field, M A. 2012. The impact of mine tailings on snouted harvester termites, Trinervitermes trinervoides (Sjostedt) (Isoptera: Termitidae), in the Vaal river region. 145 p. Dissertation of Master of Science.

Franco, MW; Maia-Barbosa, PM.; Menendez, RM.; Aguiar, JC.; Pujoni, D.; Barbosa, FAR. 2013. Plankton diversity and environmental quality in mining areas. Annual Activity Report 2011-2012. 40-43. ISSN: 2179-2771.

Garcia-Lorenzo, M L; Martinez-Sanches, M J; Pérez-Sirvent, C and Molina, J. 2009. Ecotoxicological evaluation for the screening of áreas polluted by mining activities. Ecotoxicology, 18: 1077-1086.

Golterman, HL., Clymo, RS., Ohmstad, MAM. 1978. Methods for chemical analysis of freshwaters. 2nd ed. Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications.

Guzman, FT; Gonzalez, FJA and Martınez, RR. 2010. Implementing Lecane quadridentata acute toxicity tests to assess the toxic effects of selected metals (Al, Fe and Zn). Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 287–295.

Hogan, AC; Trenfield, MA; Harford, AJ and van Dam, RA. 2013. Toxicity of magnesium pulses to tropical freshwater species and the development of a duration-based water quality guideline. Environ Toxicol Chem. 2013 Apr 23. doi: 10.1002/etc.2251.

Horning, W. B. & Weber, C. I. "Short-term methods for estimating chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms". Environmental Monitoring and Support Laboratory, U.S.Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio, 1985, EPA/600/4-85/014.

Koroleff, F. 1976. Determination of ammonia. In Grasshoff, K. Methods of seawater analysis. Weinheim: Verlag Chemie.

Lopes, I; Sedlmayr, A; Moreira-Santos, M; Moreno-Garrido, I; Blasco, J; Ribeiro, R. 2010. European bee-eater (*Merops apiaster*) populations under arsenic and metal stress: evaluation of exposure at a mining site. Environ Monit Assess. 161:237–245.

Luís, AT; Teixeira, P, Almeida, SFP; Matos, JX and Silva, EF. 2011. Environmental impact of mining activities in the Lousal area (Portugal): Chemical and diatom characterization of -contaminated stream sediments and surface water of Corona stream. Science of the Total Environment 409, p.4312–4325.

Mackeret, FJH., Heron, JF. and Talling, JF. 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. (Freshwater Biological Association Scientific Publication, 39). Kendall: Titus Wilson & Son Ltda.

Niemeyer, JC; Moreira-Santos, M; Nogueira, M A; Carvalho, G M; Ribeiro, R; Silva, E M; Sousa, J P. 2010. Environmental risk assessment of a metal-contaminated area in the Tropics. Tier I: screening phase. J Soils Sediments. 10:1557–1571

Nonato, EA; Viola, ZGG; Almeida, KCB e Schor, HHR. 2007. Tratamento estatístico dos parâmetros da qualidade das águas da bacia do alto curso do rio das Velhas. Quim. Nova, Vol. 30, No. 4, 797-804.

Palmer, MA; Bernhardt, ES; Schlesinger, WH; Eshleman, KN; Foufoula-Georgiou, E; Hendryx, MS; Lemly, AD; Likens, GE; Loucks, OL; Power, ME; White, PS and Wilcock, PR. 2010. Mountaintop Mining Consequences. Science v.327, 8 January, p. 148-149.

Pedrozo, M. F. M. & Lima, I. V. (2001). "Ecotoxicologia do cobre e seus compostos". Cadernos de Referência Ambiental, Salvador, CRA, V.2 128p.

Péry, A. R. R.; Geffard, A.; Conrad, A.; Mons, R.; Garric, J. 2008. Assessing the risk of metal mixtures in contaminated sediments on Chironomus riparius based on cytosolic accumulation. Ecotoxicology and Environmental Safety. 71: 869–873.

Reis, MP.; Costa, P.; Bueno, A.; Barbosa, FAR.; Chartone-Souza, E.; Nascimento, AMA. 2013. Molecular diversity of prokaryotes in mining-impacted and non-impacted streams and bacteria and genes involved in arsenic speciation Annual Activity Report 2011-2012. 44-46. ISSN: 2179-2771.

Rodrigues, APC; Castilhos, ZC; Cesar, RG; Almosny, NRP; Linde-Arias, AR; Bidone, ED. 2011. Avaliação de risco ecológico: conceitos básicos, metodologia e estudo de caso /Rio de Janeiro: CETEM/MCT. (Série Estudos e Documentosl, 78). 126p.

Rozon-Ramilo, LD; Dube, MG; Rickwood, CJ and Niyogi, S. 2011. Examining the effects of metal mining mixtures on fathead minnow (Pimephales promelas) using field-based multi-trophic artificial streams. Ecotoxicology and Environmental Safety 74: 1536–1547.

Salomons, W. 1995. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention, Journal of Geochemical Exploration, Volume 52, Issues 1–2, January, Pages 5-23, ISSN 0375-6742, 10.1016/0375-6742(94)00039-E.

Sarma, SS; Mangas-Ramírez, E and Nandini, S. 2003. Effect of ammonia toxicity on the competition among three species of cladocerans (Crustacea: Cladocera). Ecotoxicology Environmental Safety. Jun;55(2):227-35.

SEMAD 2004. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Aperfeiçoamento do Monitoramento da Qualidade das Águas da Bacia do Alto Curso do Rio das Velhas. Relatório 2. Minas Gerais, 145p.

Souza, F M N.; Silva, C E.; Aguiar, L A.; Almeida, J R. 2012. Análise de riscos como instrumento para sistemas de gestão ambiental. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais. v3, n1: 18-41.

Sundaraya, SK; Nayakb, BB; Lina, S ans Bhattac, D. 2011. Geochemical speciation and risk assessment of heavy metals in the river estuarine sediments—A case study: Mahanadi basin, India. Journal of Hazardous Materials 186, p.1837–1846.

Tallini, K; Guimarães, L.S.P.; Fachel, J.M.G.; Rodriguez, M.T.R. 2012. Estabelecimento de Protocolo de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático tendo o Programa de Monitoramento do Rio Jacuí, São Jerônimo (RS). Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicoly. v. 7, n. 1, 55-63.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates. Washington. D.C.133p.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 2000. Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. Washington. D.C.212p.

Van Dam, RA; Hogan, AC; McCullough, CD; Houston, MA; Humphrey, CL and Harford, AJ. 2010. Aquatic toxicity of magnesium sulfate, and the influence of calcium, in very low ionic concentration water. Environ Toxicol Chem. Feb;29(2):410-21.

Vasconcelos, FM; Ciminelli, VST; Oliveira, RP e Silva, RJ. 2004. Determinação da especiação química e potencial da mobilidade de arsênio em sítios de mineração. Geoch. Brasil., 18(2) p.115-120.

Verslycke, T; Vangheluwe, M; Heijerick, D; De Schamphelaere, K; Sprang, PV and Janssen, CR. 2003. The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid Neomysis integer (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity. Aquatic Toxicology. 64, p.307-315.

Weber, C. I. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, 1993, EPA/600/4-90/027F.

Zagatto, P. A. 2008.Ecotoxicologia. Zagatto, P A e Bertoletti,E. Ecotoxicologia Aquática – Pincípios e Aplicações 2ed., São Carlos, RIMA.

Zar, J.H. Biostatistical analysis. 2nd edition. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1984, 130 p.

7. Material Suplementar

Figura 7.1- Imagem do Córrego da Mina e da bacia de contenção cujo efluente é lançado no córrego.

Figura 7.2- Bacia de contenção da planta de beneficiamento de ouro (à esquerda) e córrego da Mina (à direita). Foto: Maione W Franco.

Figura 7.3-Imagem da área de captação de água no córrego Mutuca.

Figura 7.4- Área de captação de água no córrego Mutuca. Foto: Maione W Franco.

CAPÍTULO 4 – ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE OURO

Abstract

Gold mining activities cause environment disturbs, reducing water, sediments and soils quality. The biggest problem caused by these activities is arsenic release. Arsenic is the non-metal most toxic in the world and can promote a series of damages in DNA, skin lesions, neuro dysfunctions among others problems. The aim of this study was to evaluate water and sediment quality in an area close to a gold mine, in Brumal, Minas Gerais State, Brazil. We chose three streams (P1, P2 e P3) influenced by the mine in different ways. Ecotoxicological bioassays were conducted with water and sediment samples and metal contamination analyzed in these two compartments. The results showed high metal contamination in water and sediment, corroborated by ecotoxicological bioassays. P2, which receives wastewater directly from the gold mine, was the most contaminated stream by arsenic (51 to 120 $\mu.L^{-1}$) followed by P1 (0.57 to 90 $\mu.L^{-1}$), located next to a water spring and used for irrigation of vegetables. On the other hand, the stream that receives effluent directly from a containment dam (P3) showed arsenic levels below Conama limits (0.55 to 2.05 $\mu.L^{-1}$). However, it presented acute toxicity effect in all water samples. About sediment, P1 showed the highest average value of As (26.31 mg.Kg-1) while P2 showed the highest average values of Cu (37.29 mg. kg-1) and Cr (4.95 mg.Kg-1). These results indicated that areas close to gold mine area subject to contamination by metals and arsenic, independently of receiving mine effluents.

Keywords: Gold mine, arsenic, metals, ecotoxicological bioassays; ecological risk assessment

Resumo

As atividades de mineração de ouro provocam grandes distúrbios ambientais reduzindo a qualidade da água, sedimento e solo. Um dos maiores problemas causados pelo desenvolvimento dessas atividades é a liberação de arsênio, um ametal extremamente tóxico no ambiente que pode provocar danos no DNA, lesões na pele, neurodisfunções entre outros problemas. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade de água e sedimento de uma área no entorno de uma mineração de ouro. Para tanto, foram escolhidos três córregos (P1, P2 e P3) influenciados por atividade mineradora de ouro, direta e indiretamente. Foram conduzidos ensaios ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento durante períodos secos e chuvosos e avaliada a contaminação por metais. Os resultados mostraram que as três áreas estão fortemente contaminadas. O córrego mais contaminado por arsênio foi P2 (51,55-120 $\mu g.L^{-1}$, que recebe efluente diretamente da mina de ouro, seguido por P1 (0,57-90 $\mu g.L^{-1}$), localizado próximo a uma nascente, e utilizado para irrigação de hortaliças. Já o córrego que recebe efluente direto de uma bacia de contenção (P3), apresentou níveis de arsênio abaixo dos limites da legislação (0,55-2,05 $\mu g.L^{-1}$). Entretanto, apresentou efeito de toxicidade aguda em todas as amostras de água. Em relação ao sedimento, P1 apresentou o maior valor médio de As (26,31 $mg.Kg^{-1}$) enquanto P2 apresentou os maiores valores médios de Cu (37,29 $mg.Kg^{-1}$) e Cr (4,95 $mg.Kg^{-1}$). Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que áreas próximas à mineração de ouro estão sujeitas à contaminação por metais e arsênio independentemente de receberem efluentes diretamente da mina.

Palavras-chave: Mineração de ouro, arsênio, metais, ensaios ecotoxicológicos, avaliação de risco ecológico.

1. Introdução

A mineração de ouro é uma das atividades mais tradicionais da humanidade, sendo conduzida em praticamente todo o mundo, causando sérios problemas ambientais e sociais nas comunidades que habitam a área do empreendimento (Kumah, 2006; Miserendino, 2013). Nesse contexto, diversos conflitos surgem entre a comunidade e as companhias (Garvin *et al.,* 2009; Avci *et al.,* 2010; Miserendino *et al*, 2013), aumentando pressões sociais e gerando uma demanda, ainda que modesta, para o desenvolvimento de medidas mitigadoras de impactos por parte das empresas como economia de água, tratamento de efluentes e gestão de resíduos. (Mudd, 2007).

Um dos maiores problemas relacionados às atividades de mineração de ouro, é a liberação de arsênio no ambiente. O As é um ametal extremamente tóxico e sua ingestão está associada a uma série de problemas de saúde, incluindo formação de tumores, disfunções cognitivas na infância, lesões na pele entre outros (Jain & Ali, 2000; Hall, 2002; McCintock *et al.,* 2012). Talvez o caso mais famoso seja o envenenamento de milhares de pessoas em Bangladesh através da ingestão de água contaminada (Karim, 2000).

Outros fatores da contaminação humana é a bioacumulação de metais e arsênio em animais e vegetais cultivados para consumo (Chakrabortia *et al,* 2012), contaminação de água subterrânea, que pode ocorrer mesmo em minas desativadas (Pawels *et al.,* 2010) e até mesmo a partir de contato direto com solo, principalmente crianças (Pearce *et al,* 2010).

Além disso, metais e arsênio oriundo das minerações podem alcançar longas distâncias devido a eventos climáticos como tempestades, mesmo se tratando de minas desativadas (Toujaguez *et al.,* 2013), por carreamento através de riachos expandindo a contaminação ao longo da bacia (Bright *et al,* 1994) ou pela liberação de arsênio subterrâneo através de substâncias nitrogenadas utilizadas na agricultura (Pawels *et al.,* 2010).

Com base nestas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade ambiental de água e sedimento de áreas influenciadas pela mineração de ouro, de forma direta e indireta, utilizando ferramentas ecotoxicológicas com uma abordagem da avaliação de risco ecológico.

2. Materiais e métodos

2.1. Área de estudo

Neste trabalho, foram escolhidos três córregos próximos a uma área de mineração de ouro que esteve desativada por cinco anos (Figura 1). A Tabela 1 apresenta a descrição e localização de cada ponto amostrado. Os pontos foram escolhidos de forma a amostrar realidades diferentes dentro de uma mesma região. Assim, o ponto P1 foi escolhido inicialmente como área de referência, e os pontos P2 e P3 são pontos relacionados diretamente à atividade de mineração. Além disso, essa área foi objeto de estudo de um conjunto de projetos voltados a caracterização biológica desses ambientes, envolvendo estudos ecotoxicológicos de solo e biodiversidade de fitoplâncton, zooplâncton e zoobentos, que juntos com o presente estudo integraram o programa INCT-Acqua.

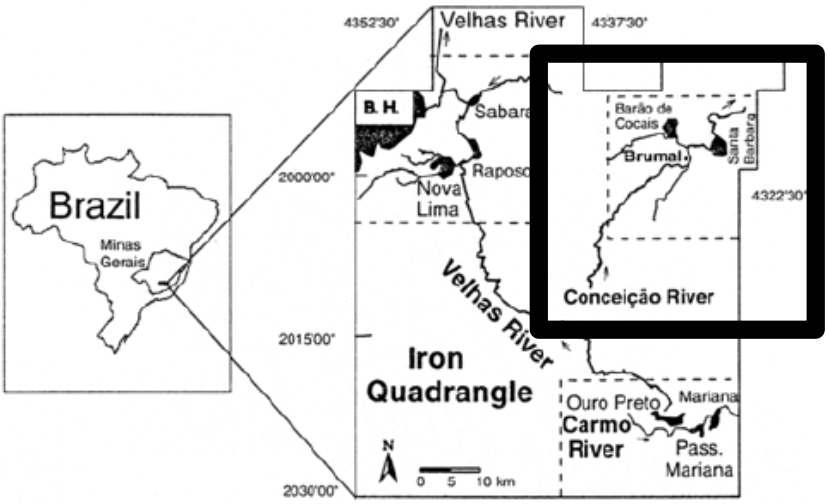

Figura 1: Localização da bacia do rio Doce destacando a área de estudo (adaptado de Borba *et al.*, 2004)

Tabela 1- Descrição e localização dos pontos amostrados.

Ponto	Localização	Descrição
P1	S19°59' 12.1 O 45° 29’27.5	Nascente localizada dentro de um sítio no município de Brumal. A água é utilizada para cultivo de hortaliças e consumo humano. Deságua em uma canaleta próxima a rua. Esse ponto está próximo a uma bacia de contenção de rejeitos da mineração, mas não recebe influência direta da mesma.
P2	S 19° 58' 15.4, O 43° 27 ' 50.7	Córrego localizado no bairro Barra Feliz do município de Brumal, sendo receptor de efluente da área de mineração. O córrego é quase todo recoberto por vegetação e passa dentro de área residencial por meio de uma calha, desaguando em um ribeirão. A água não é utilizada diretamente para consumo, mas existe próximo ao córrego cultivo de hortaliças e aves aquáticas.
P3	S 19^0 59' 08.1 W 43^0 28' 15.2	Córrego canalizado formado pelo escoamento de uma bacia de contenção, desaguando em ribeirão afluente do rio Conceição.

2.2. Coleta de amostras e parâmetros físicos e químicos

As coletas de água e sedimento foram realizadas semanalmente em setembro (período seco), novembro e dezembro de 2011 (período chuvoso) totalizando 09 amostragens. Foram realizadas, *in situ*, medidas de parâmetros físicos e químicos da água utilizando a sonda multiparâmetros da marca Hydrolab e, em laboratório, medidas de dureza total e alcalinidade (Tabela 2).

Para análise de metais totais, as amostras de água foram fixadas *in situ* com de ácido nítrico concentrado (50%) até redução do pH a 2. Para a determinação de ferro dissolvido foi realizada a filtragem das amostras de água, *in situ*, em membranas com 0,45 μm de porosidade. Em seguida, as amostras foram fixadas com ácido nítrico concentrado. As amostras de sedimento para análise de metais biodisponíveis, que é a fração relevante do ponto de vista ambiental, foram peneiradas em campo com peneiras granulomértrica de malha 2,0 mm. Em laboratório, foi realizada a extração de metais biodisponíveis em sedimento

utilizando ácido clorídrico 0,1M, com as amostras secas, na proporção de 1g de sedimento para 25 ml de ácido.

A análise de metais foi realizada no Laboratório de Metalurgia da UFMG, dentro do projeto INCT-ACQUA, através de Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). A análise de arsênio foi realizada por Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com geração de hidretos. As análises de nutrientes foram realizadas pelo Laboratório de Limnologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

As amostras de água para realização de ensaios de toxicidade e análise de nutrientes foram coletadas com galões plásticos e armazenadas em gelo até a chegada ao laboratório, onde foram mantidas refrigeradas a 4°C. As amostras de sedimento para condução dos bioensaios foram coletadas em potes plásticos, considerando a camada superficial do sedimento (6 cm), seguindo os mesmos procedimentos de armazenamento para as amostras de água. Essa amostragem foi realizada quinzenalmente durante os meses citados.

Foi realizada uma caracterização granulométrica do sedimento dos córregos. Para tanto, uma fração de 100 gramas de sedimento seco foi fracionado em uma sequência de peneiras com malha variando de 0,063 a 16 mm com auxílio de agitador.

Tabela 2- Parâmetros avaliados com suas respectivas metodologias.

Parâmetros físicos e químicos	**Metodologia**
pH, OD, Condutividade, T°C, TDS, TB,	Sonda Hydrolab
Alcalinidade	Mackereth et al. (1978)
Dureza total	ABNT-NBR 5761 (1984)
Metais em água e sedimento	
Fe, Mn, Cu, Zn, Mg, Ni, Cr, Al, Hg	ICP-OES
As	ICP-OES geração de hidretos
Nutrientes	
NH_4	Koroleff (1976)
NO_2, Silicato	Mackereth et al. (1978)
P total, PO_4	Golterman et al. (1978)

TDS: sólidos totais dissolvidos; TB: turbidez; OD: oxigênio dissolvido.

2.3. Parâmetros Ecotoxicológicos

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados quinzenalmente. Foram conduzidos ensaios de toxicidade aguda e crônica com amostras de água, utilizando *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*, respectivamente, seguindo normas ABNT (2003 e 2005).

Os bioensaios de toxicidade aguda foram conduzidos em tréplicas, em copos plásticos de 50 ml, contendo 20 ml da amostra de água para o grupo teste e 20 ml de água de cultivo para o grupo Controle. Foram expostos 10 organismos em cada réplica, sendo mantidos no escuro, sem alimentação, durante 48h. Ao final do teste, o número de indivíduos imóveis foi contabilizado. Nestes bioensaios, considerou-se efeito tóxico agudo quando a mortalidade ou imobilidade foi igual ou superior a 50% nas amostras, com mortalidade inferior a 10% no Controle. Às amostras cujo efeito agudo não foi detectado, seguiram-se os ensaios de toxicidade crônica.

Os bioensaios de toxicidade crônica foram conduzidos em copos plásticos com 20 ml de amostra de água para o grupo teste e 20 ml de água de cultivo para o grupo Controle, considerando dez réplicas contendo um único organismo. Os organismos foram alimentados no início dos bioensaios e mantidos em fotoperíodo de 12 horas. A temperatura foi mantida em 25 ±1°C. A cada monitoramento, realizado em dias alternados, eram contadas e retiradas as neonatas, a água renovada e os organismos novamente alimentados. Nestes bioensaios, o parâmetro de avaliação foi a reprodução dos organismos ao longo de 7 dias, considerando três reproduções de cada organismo.

Os ensaios com amostras de sedimento (sedimento total) utilizaram como organismos-teste o quironomídeo *Chironomus xanthus*, para ensaios de toxicidade aguda, e *C. silvestrii*, para ensaios de toxicidade crônica, seguindo normas ABNT (2003; 2005) e USEPA (1994). Os experimentos de toxicidade com sedimento foram conduzidos utilizando copos plásticos contendo 5 gramas de sedimento teste e 20 ml de água de cultivo totalizando 10 réplicas. Para

o grupo Controle, foi utilizado sedimento dos cultivos de quironomídeos. Em relação aos bioensaios de toxicidade aguda, os organismos foram expostos individualmente e alimentados no início do experimento, sendo mantidos no escuro por 96h. Ao final do experimento o número de indivíduos mortos foi contabilizado. Em relação aos bioensaios de toxicidade crônica, foram seguidos os mesmo procedimentos dos bioensaios com amostras de água, sendo os organismos expostos individualmente em fotoperíodo de 12h e alimentados no início e a cada monitoramento.

Os dados de ensaios de toxicidade crônica foram analisados através do teste de Dunnett (Dunnet, 1964; Zar, 1984; Horning & Weber, 1985; Weber, 1993) que apresenta valor de erro global que leva em consideração as múltiplas comparações com o Controle, ajustando a região de rejeição de modo que a probabilidade de detectar uma diferença estatisticamente significativa entre uma amostra e Controle seja inferior a 0,05. Para tanto, a normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilks (Weber, 1993). A homocedasticidade, ou homogeneidade de variâncias, foi avaliada por meio do teste de Barttlett (Weber, 1993).

2.4. Análise de dados

Para avaliação dos dados, utilizou-se um protocolo de avaliação de risco ecológico adaptado de Tallini *et al*. (2012) para avaliar as linhas de evidência química e ecotoxicológica de risco, considerando o conceito de Unidade Potencial Tóxica (UPT). A UPT leva em consideração a razão entre a concentração do metal no ambiente e o limite determinado pela legislação. Para tanto, utilizou-se as resoluções CONAMA n°357 como base para considerar as amostras de água, o CONAMA n°344, para as amostras de sedimento e CONAMA n°420, para as amostras de solo. O valor obtido desta razão foi classificado em três classes de qualidade ambiental (QA), Ótima, Alerta e Crítica (Tabela 3). Os dados ecotoxicológicos de

solo foram obtidos de Alves & Rietzler (2013) e os dados de metais totais em solo foram fornecidos pelos mesmos autores em estudo realizado em conjunto com o presente trabalho.

Tabela 3- Critérios de qualidade ambiental para as linhas de evidência química e ecotoxicológica (adaptado de Tallini *et al*., 2012).

Água superficial		
UPT	**Critério de corte**	**Classe de qualidade ambiental**
< 0,5	CONAMA 357 Classe 2	Ótima
entre 0,5 e 1,0		Alerta
> 1		Crítica
Sedimento		
UPT	**Critério de corte**	**Categoria de qualidade ambiental**
< 0,5	CONAMA 344 Nível 1	Ótima
entre 0,5 e 1,0		Alerta
> 1		Crítica
Ensaios ecotoxicológicos		
UPT	**Critério de corte**	**Categoria de qualidade ambiental**
Ausência	Toxicidade	Ótima
Crônica		Alerta
Aguda		Crítica

Os resultados de toxicidade também foram divididos em três classes de qualidade ambiental, onde ausência de efeito indicou qualidade Ótima, presença de efeito crônico indicou Alerta e presença de efeito tóxico agudo indicou qualidade Crítica (Tabela 3). Após a classificação da qualidade da água, sedimento e solo de cada amostra, seguiu-se a avaliação de risco através do compilamento dos dados para análise da frequência da qualidade ambiental de cada parâmetro.

Para comparação da contaminação de metais entre as áreas utilizou-se o conceito de Razão de Referência (RTR) proposto por Chapman (1990), no qual os valores dos elementos de interesse são divididos por valores de referência, permitindo a comparação entre diferentes parâmetros. Considerando a ausência de uma área de referência para o presente estudo, adaptou-se esse conceito utilizando o valor máximo, a Razão de Valor Máximo (RTM)

(Almeida & Rocha, 2006), sendo o valor de um metal obtido, dividido pela sua maior concentração observada. Assim, os valores de RTM variaram entre 0 e 1, onde a proximidade de 1 indica ambiente com as maiores concentrações de determinado metal.

A RTM foi calculada para cada compartimento, água, sedimento e solo através do seguinte cálculo (Equação 1):

(Eq. 1)

Onde,

y é o parâmetro avaliado, *i* a estação de coleta, *Vyi*, valor do parâmetro *y* na estação *i* e *Vmi*, o valor máximo do parâmetro *y*. O índice de contaminação por metais (ICM) foi obtido a partir da média simples dos valores de RTM (Equação 2).

(Eq. 2)

A partir dos ICMs foram produzidos gráficos de teia para comparação entre os compartimentos e períodos de coleta. Considerando que os metais apresentam características e toxicidade diferentes, seguiu-se uma proposta de cálculo de ICM através da soma dos produtos das RTMs com seus respectivos pesos, considerando para determinação dos pesos, os valores estabelecidos pela legislação, de forma que quanto menor o valor desse limite maior seria o peso do parâmetro, sendo denominado de Índice de Contaminação por Metais Ponderado (ICMP). Para evitar uma subestimativa da intensidade da contaminação por metais, foram considerados para cálculo do peso somente metais detectados ou cujo limite de detecção correspondeu a legislação (Equações 3 a 5).

(Eq. 3)

(Eq. 4)

(Eq. 5)

Onde *Wi* se refere ao peso do parâmetro *i*, *Mi* é o fator de correção do peso, *Vri* é o valor de referência para o parâmetro *i* e *Vr* é o valor de referência estabelecido pela legislação brasileira.

3. Resultados

Os parâmetros físicos e químicos, com exceção da temperatura, variaram muito dentro do mesmo período, porém, não apresentaram diferença significativa entre eles (Tabela 4). O pH se manteve entre 6 e 8. P3 apresentou as maiores concentrações médias de condutividade (863,50 $\mu S.cm^{-1}$), alcalinidade (6,13 meq.CO2), amônia (1457,93 $\mu g.L^{-1}$) e nitrito (36,95 $\mu g.L^{-1}$) enquanto o ponto P2 apresentou as maiores concentrações médias de fosfato (10,27 $\mu g.L^{-1}$), fósforo total (145,32 $\mu g.L^{-1}$) e silicatos (0,14 $mg.L^{-1}$). Contudo, esses valores não ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação Conama 357/05.

Em relação aos metais em água, os pontos mais contaminados foram P1 e P2, com concentrações de arsênio acima do limite estabelecido pela legislação. A concentração de manganês também esteve acima do limite CONAMA 357/05 para classes 1 e 2, em todos os pontos amostrados (Tabela 5). O sedimento dos pontos P1 e P2 apresentaram as maiores concentrações de metais e também de arsênio, sendo possível verificar diferenças entre período seco e chuvoso (Tabela 6).

Os ensaios de toxicidade aguda e crônica corroboraram os dados de contaminação por metais nos pontos P1 e P2. Somente nas amostras de água do ponto P1 não foi verificado efeito de toxicidade. Contudo, o sedimento deste ponto apresentou efeito de toxicidade aguda

e crônica. O ponto P3, que apresentou as menores concentrações de metais, foi o único ponto onde verificou-se efeito de toxicidade aguda em todas as amostras de água (Figura 2).

A granulometria do sedimento permitiu distingui-los em termos de qualidade, sendo o sedimento referente à P1 o mais preservado com mais de 60 % de cascalho enquanto o sedimento de P3 apresentou as maiores frações de silte+argila e areia fina a muito fina. O sedimento de P2 apresentou a variação mais homogênea, com frações de sedimentos de todas as classes granulométricas (Figura 3).

Avaliando-se a frequência de qualidade ambiental (QA), em relação à contaminação por metais, os pontos P1 e P2 apresentaram as menores porcentagens de QA Ótima. Contudo, considerando-se os ensaios ecotoxicológicos, o ponto P3 se apresentou como o mais crítico dos pontos amostrados em relação aos bioensaios de toxicidade conduzidos com amostras de água (Figuras 4, 5 e 6).

Ainda considerando as UPTs, o ponto P1 apresentou nas amostras de água 33% de frequência de QA crítica para As e 67% para Mn. O ponto 2 apresentou 100 % de QA crítica para As e Mn, enquanto P3 apresentou essa mesma frequência para Mn e para os ensaios ecotoxicológicos (Figura 4). Em relação ao sedimento, ocorreu redução da frequência crítica em todos os pontos de As e Mn, sendo o oposto observado para solo, onde a frequência crítica alcançou 100% para As e Ni nos pontos P1 e P2 e Cr para todos os pontos (Figuras 5 e 6).

A tabela 7 apresenta o peso calculado para cada um dos metais em cada compartimento. Comparando-se as áreas por meio de seus RTMs, foi possível verificar que o ponto P2 foi o mais impactado (Figura 7), mesmo considerando-se pesos diferenciados para cada elemento de interesse (Figura 8). Avaliando-se água, sedimento e solo separadamente, verificou-se que os compartimentos solo e sedimento foram os que mais contribuíram para redução da qualidade ambiental.

Tabela 4- Parâmetros físicos e químicos determinados para P1, P2 e P3, nos períodos secos e chuvosos.

Ponto	Período		pH	Condutividade ($\mu S.cm^{-1}$)	Alcalinidade (meq.CO2)	Dureza total ($mg.L^{-1}$ CaCO3)	TDS ($mg.L^{-1}$)	T°C	OD ($mg.L^{-1}$)	Turbidez (UNT)	NH4 ($\mu g.L^{-1}$)	NO2 ($\mu g.L^{-1}$)	PO4 ($\mu g.L^{-1}$)	Fósforo total ($\mu g.L^{-1}$)	Silicatos ($mg.L^{-1}$)
P1	Seca	Min	6,00	12,00	0,14	30,00	0,00	17,50	7,61	20,40	11,54	0,09	1,23	10,51	0,09
		Med	6,85	13,67	0,17	95,00	0,00	21,31	10,10	23,33	17,66	0,14	2,06	12,25	0,10
		Max	7,62	16,00	0,19	160,00	0,00	23,16	15,00	30,00	25,10	0,20	2,98	13,93	0,12
	Chuva	Min	6,20	12,00	0,13	8,00	0,00	21,42	7,68	0,50	18,42	0,01	2,18	3,38	0,02
		Med	6,81	13,80	0,15	9,33	0,02	22,42	10,01	7,75	34,55	0,07	2,92	4,58	0,03
		Max	8,07	16,00	0,16	10,00	0,10	23,55	10,93	19,40	86,40	0,12	3,72	5,60	0,04
P2	Seca	Min	6,16	246,00	1,67	110,00	0,00	17,50	7,53	21,50	61,99	0,51	1,92	45,22	0,12
		Med	7,30	250,00	1,71	115,00	0,15	18,97	7,74	39,10	262,23	1,65	10,27	145,32	0,14
		Max	8,20	255,00	1,74	120,00	0,20	19,97	8,00	80,60	785,41	3,39	33,55	423,94	0,19
	Chuva	Min	7,05	253,00	1,44	102,00	0,20	19,82	10,31	5,40	28,26	0,03	0,75	17,03	0,03
		Med	7,54	817,20	1,84	506,00	0,54	21,90	10,67	14,18	49,25	0,08	1,59	29,24	0,03
		Max	8,11	1500,00	2,84	900,00	1,00	23,19	11,04	24,60	75,56	0,13	2,53	46,47	0,05
P3	Seca	Min		227,00	3,92	2120,00	0,00	16,00	3,62		567,28	7,27	0,17	0,74	0,04
		Med	6,84	863,50	6,25	2460,00	0,10	17,30	7,05	272,90	1457,93	36,95	2,00	20,64	0,06
		Max		1500,00	8,55	2800,00	1,00	18,30	12,52		1940,34	78,41	5,45	41,47	0,06
	Chuva	Min			4,69	1260,00	1,00	21,92			1297,54	33,75		0,59	38,34
		Med	6,53		6,13	1550,00	1,00	22,98		0,00	1320,94	33,96	0,60	1,11	40,17
		Max			7,57	1840,00	1,00	24,04			1344,35	34,17		2,63	41,97

Tabela 5- Concentração média, máxima e mínima de arsênio ($\mu g.L^{-1}$) metais($mg.L^{-1}$) totais na água nos períodos de seca e chuva nos três pontos amostrados e valores estabelecidos pela legislação.

			As	Fe	Mn	Cu	Pb	Zn	Mg	Ni	Cr	Al	Cd
P1	Seca	Min	0,57	0,08	0,07				0,64				
		Med	2,48	0,16533	0,22	<0,004	<0,01	<0,10	0,68	<0,004	<0,002	<0,10	<0,002
		Max	3,97	0,335	0,523				0,72				
	Chuva	Min	50,00	0,10	0,67			<0,05	14,72				
		Med	70,00	0,12	1,11	<0,004	<0,01	0,05	71,47	<0,004	<0,002	<0,1	<0,002
		Max	90,00	0,15	1,91			0,06	164,13				
P2	Seca	Min	120,00	<0,10	1,75				13,53				
		Med	0,18	0,65	1,99	<0,004	<0,01	<0,05	13,95	<0,004	<0,002	0,01	<0,002
		Max	200,00	1,39	2,44				14,26				
	Chuva	Min	51,55	0,18	0,68				14,69				
		Med	80,00	0,25	1,14	<0,004	<0,01	<0,05	71,54	<0,004	<0,002	<0,10	<0,002
		Max	119,18	0,34	1,94				164,45				
P3	Seca	Min	1,14	<0,05	0,59				14,48	0,01		0,1	
		Med	1,59	0,17	0,76	<0,004	<0,01	<0,05	15,08	0,03	0,01	0,28	<0,002
		Max	2,05	0,22	0,77				15,67	0,57		0,46	
	Chuva	Min	0,55	<0,02	0,28				33,09				
		Med	0,74	0,20	0,37	<0,004	<0,01	<0,05	43,57	0,01	0,003	0,10	<0,002
		Max	0,94	0,37	0,43				54,04				
Conama 357	Classe 1 e 2		*10	0,3	0,1	0,009	0,01	0,18	**	0,025	0,05	0,1	0,001

*Concentração em $\mu g.L^{-1}$ ** Não existe valor estabelecido pela legislação.

Tabela 6- Concentração média de arsênio e metais biodisponíveis (mg.Kg^{-1}) em sedimento nos períodos de seca e chuva nos três pontos amostrados e valores estabelecidos pela legislação.

Ponto	Período		As	Fe	Mn	Cu	Pb	Zn	Mg	Ni	Cr	Hg	Al	Cd
P1	Seca	Min	<2,50	5919,01	1200,17	13,62	<2,50	36,31	279,09	6,06	2,66	<2,50	339,21	<2,50
		Med		6722,62	1829,22	19,09		37,24	371,17	8,81	2,67		344,33	
		Max		8015,72	3138,48	29,79		55,54	627,51	13,90	2,69		348,53	
	Chuva	Min	10,44	2388,50	363,59	13,53	1,44	32,94	230,04	4,87	1,17	<0,10	288,50	< 2,50
		Med	26,31	6765,73	1324,57	24,41	3,73	43,66	359,25	8,17	1,17		383,63	1,32
		Max	42,18	11470,83	2394,69	41,72	5,98	52,53	459,27	11,01	1,17		443,35	1,32
P2	Seca	Min	<2,50	18387,79	3630,03	11,16	<2,50	30,60	1016,81	8,37	3,82	2,73	15,28	<2,50
		Med	1,05	20776,38	4552,80	27,58		36,74	1257,00	10,72	4,95	3,36	33,80	
		Max	3,14	23640,34	5477,68	43,17		42,81	1615,22	13,15	6,08	4,12	54,09	
	Chuva	Min	1,84	3524,05	687,06	13,12	1,21	29,03	133,72	3,67	< 2,5	<0,10	185,36	1,75
		Med	16,33	13776,81	1827,26	37,29	3,39	49,28	496,71	10,28	0,35		262,12	2,28
		Max	31,74	26281,45	3784,73	75,05	7,57	61,84	987,52	15,31	1,41		340,15	2,79
P3	Seca	Min	<2,50	276,95	68,45	6,68	5,86	2,28	318,47	1,54	<0,1	<0,5	210,59	<0,10
		Med		308,07	69,32	6,84	6,43	2,65	373,46	1,93			232,91	
		Max		437,60	197,68	8,84	9,46	2,84	462,61	2,59			372,61	
	Chuva	Min	<2,50	185,92	54,62	6,98	2,89	2,89	353,02	1,64	<0,10	<0,50	245,54	<0,10
		Med		223,64	59,80	7,19	3,88	2,48	368,05	1,79			358,20	
		Max		296,52	65,63	7,30	4,68	54,62	388,58	2,00			581,21	
Conama 344	Nível 1		5,9	*	*	35,7	35	123	*	18	37,3	0,17	*	0,6

* Limites não estabelecidos pelo Conama 344/04

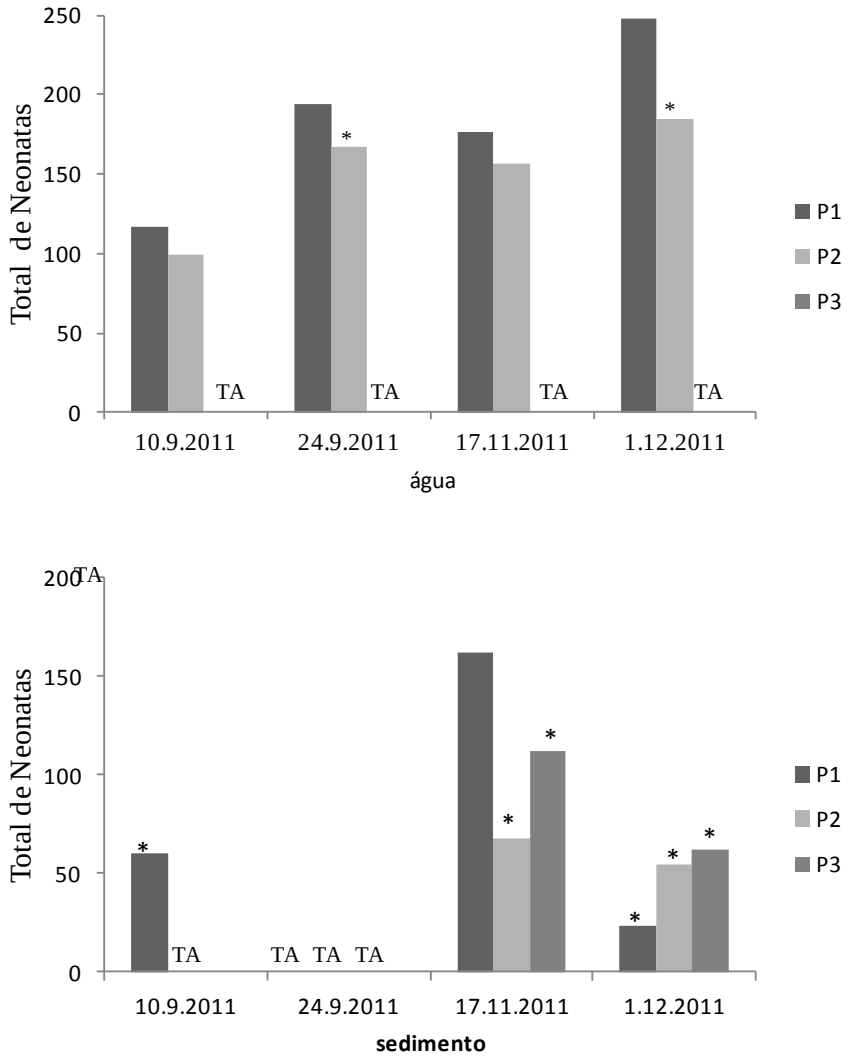

Figura 2- Total de neonatas produzidas durante os ensaios de toxicidade crônica (TA: amostras que apresentaram toxicidade aguda; * efeito de toxicidade crônica).

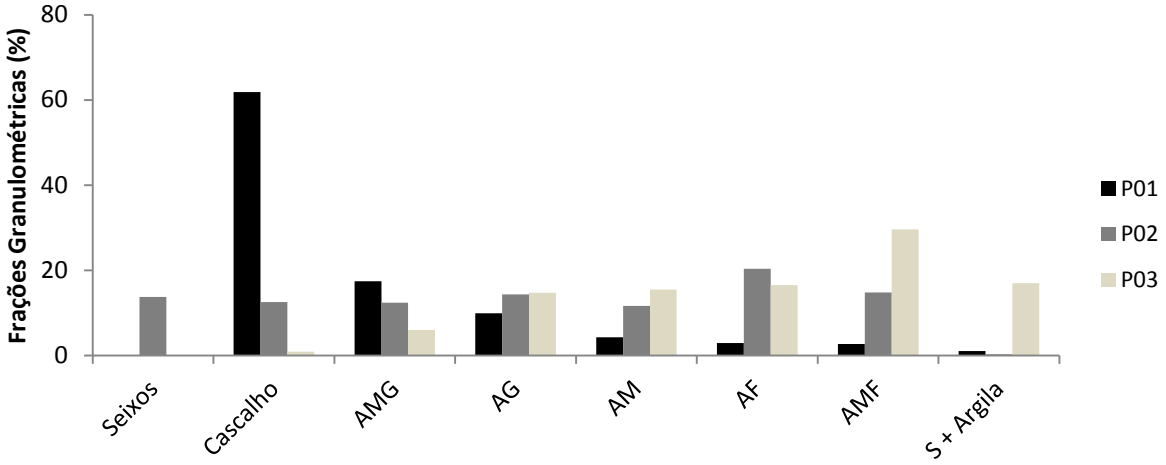

Figura 3- Frações granulométricas dos três pontos estudados.

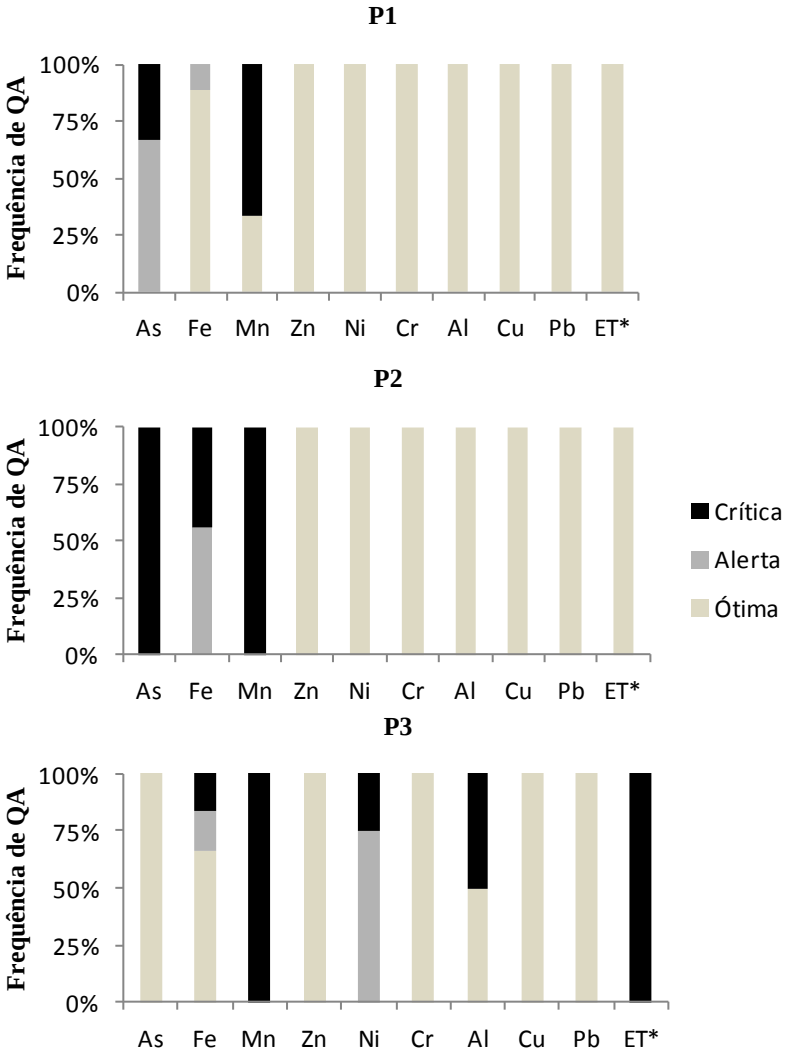

Figura 4- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de água para metais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* nos três pontos amostrados considerando todo o período de estudo.

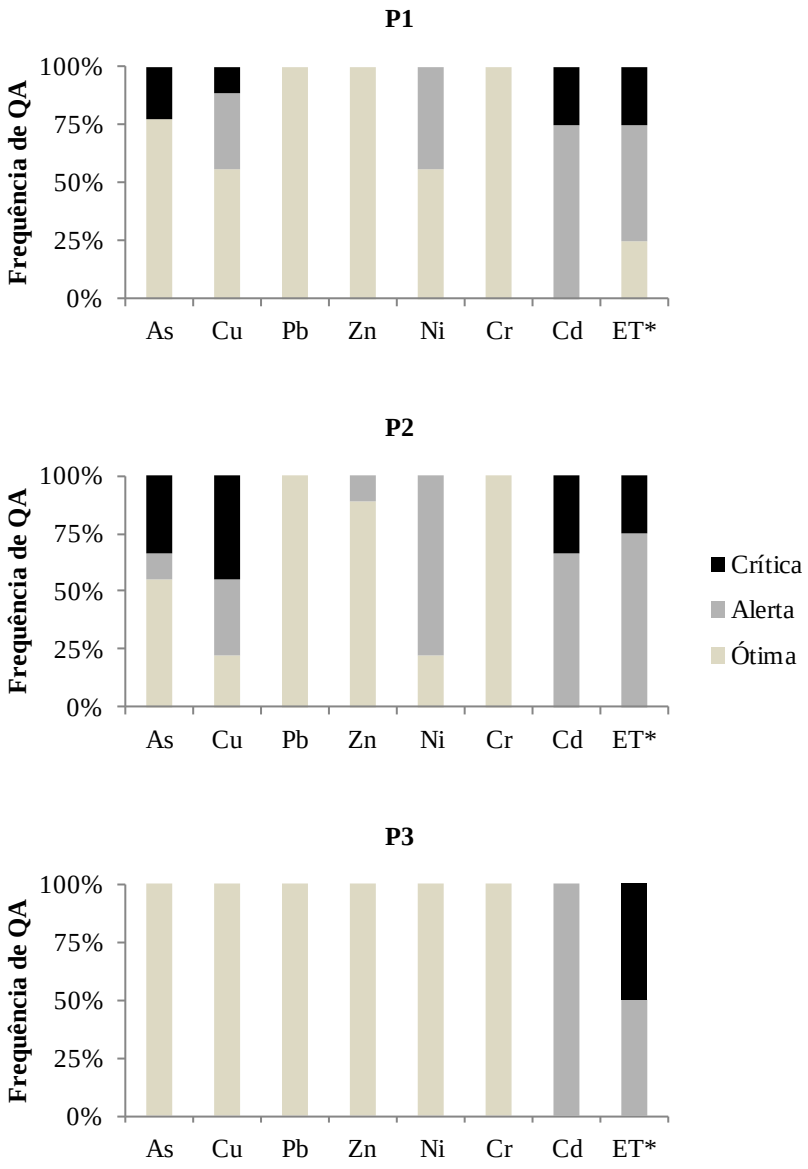

Figura 5- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de sedimento para metais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Ceriodaphnia silvestrii* e *Chironomus xanthus* nos três pontos amostrados, considerando todo o período de estudo.

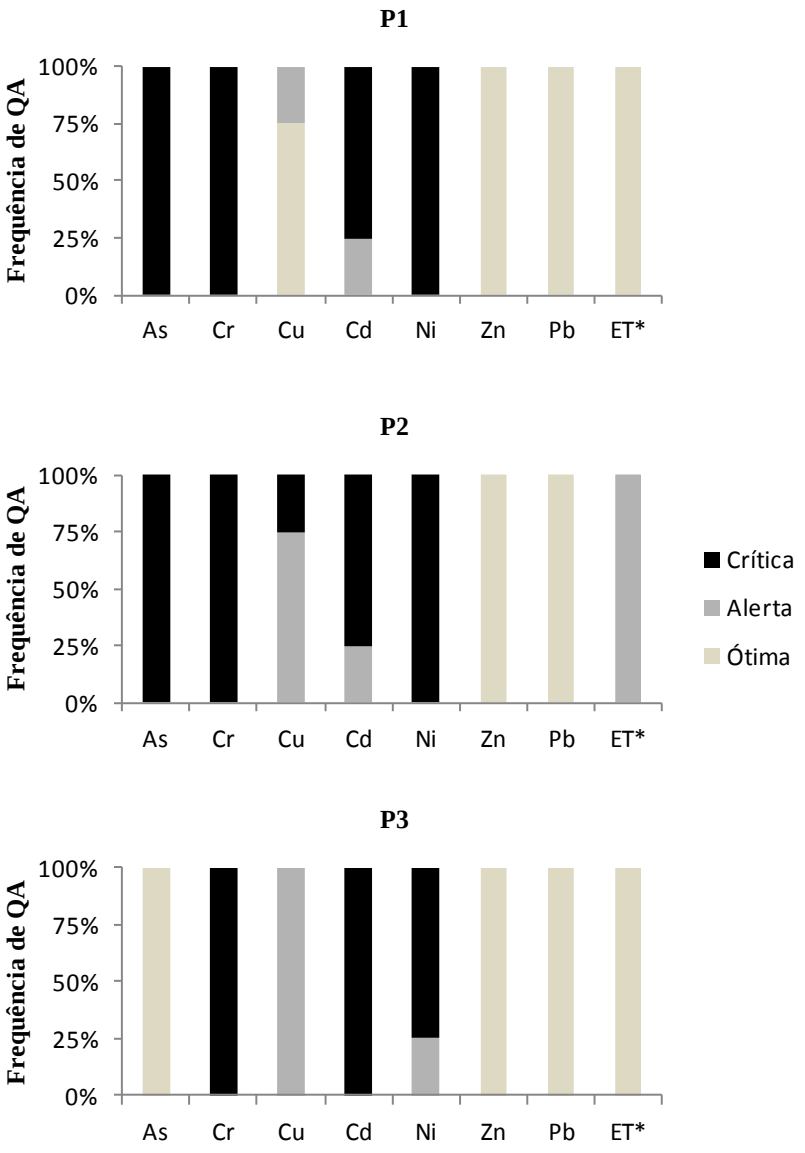

Figura 6- Frequência de Qualidade Ambiental (QA) em amostras de solo para metais totais e ensaios ecotoxicológicos (ET) utilizando *Eisenia andrei* nos três pontos amostrados considerando todo o período de estudo (Obs: Dados de metais fornecidos por Alves (dados não publicados) e dados ecotoxicológicos obtidos de Alves e Rietzler (2013).

Tabela 7- Peso obtido para cada metal nos diferentes compartimentos ambientais avaliados.

Metal	Água	Sedimento	Solo
As	0,11	0,16	0,16
Fe	0,07	*	*
Mn	0,10	*	*
Zn	0,09	0,09	0,08
Cu	0,11	0,14	0,15
Cr	0,10	0,14	0,14
Ni	0,11	O,15	0,16
Pb	0,11	0,14	0,14
Cd	0,11	0,17	0,17
Al	0,10	*	*

* Ausência de limites estabelecidos pela legislação.

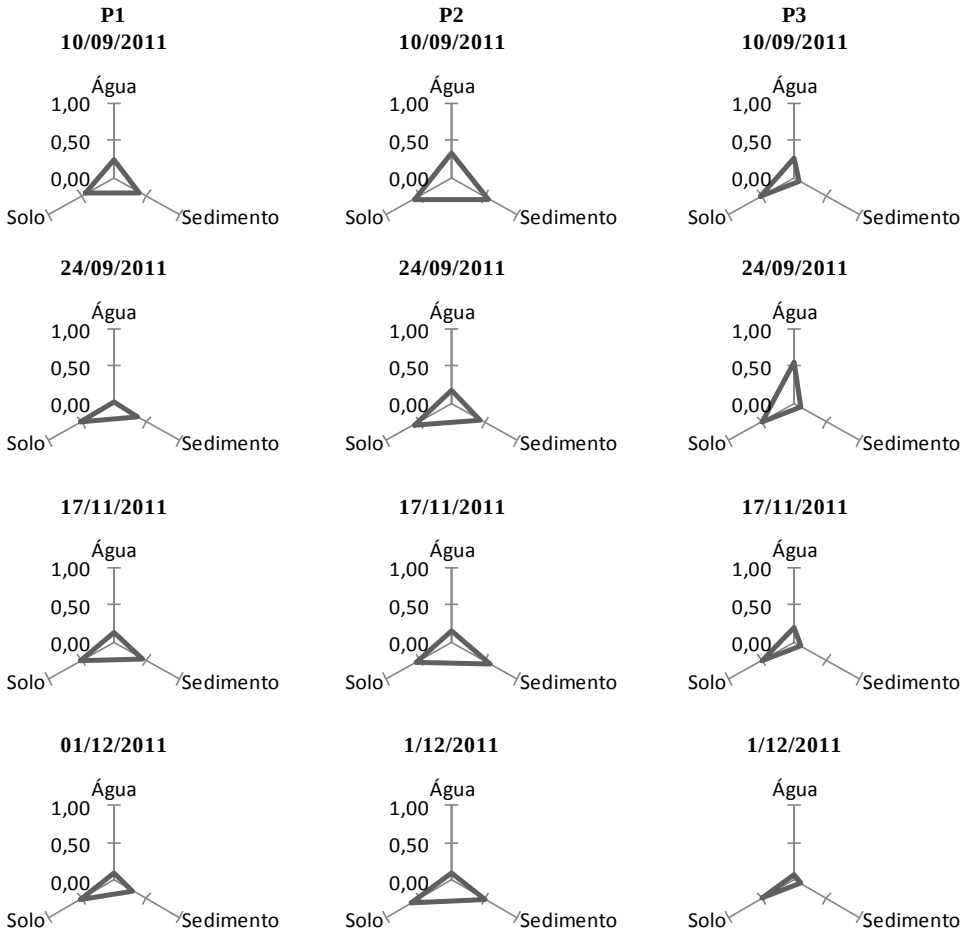

Figura 7- Contaminação por metais em água, sedimento e solo considerando a média simples das RTMs nos três pontos de estudo no período seco (10/9/11 e 24/9/11) e chuvoso (17/11/11 e 1/12/11).

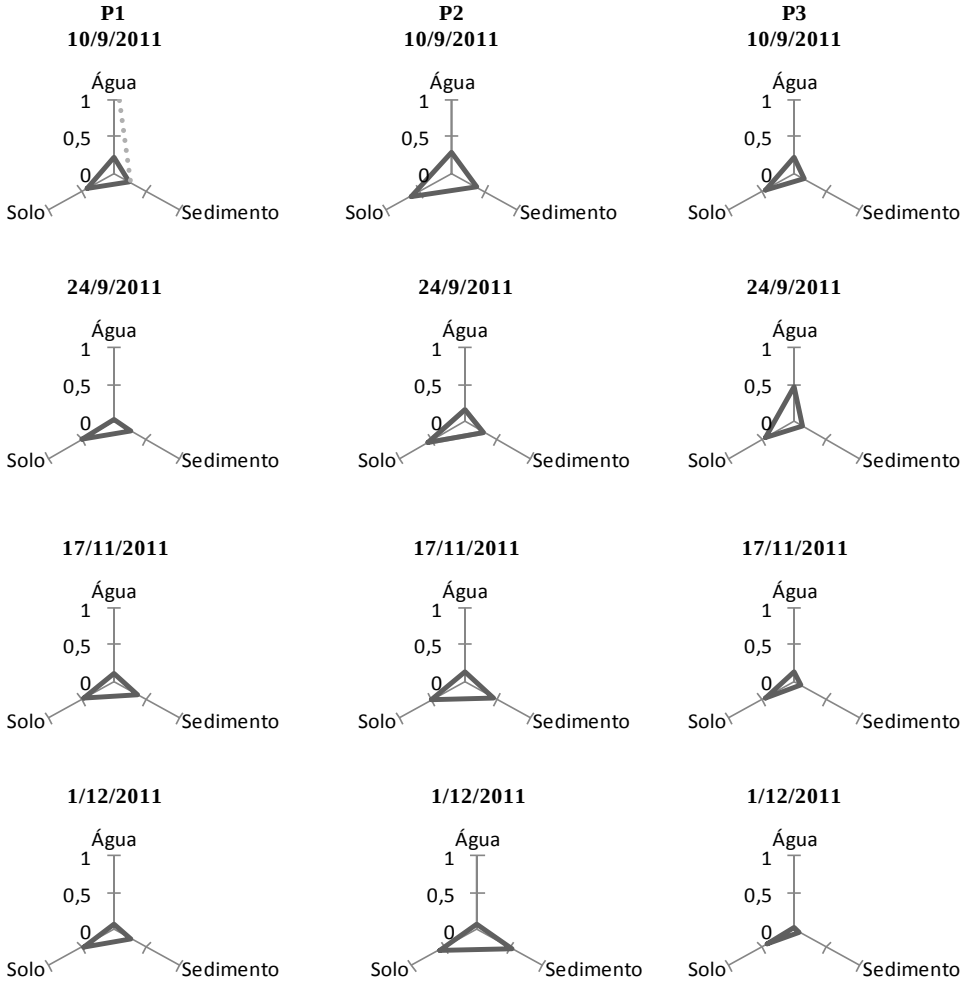

Figura 8- Contaminação por metais em água, sedimento e solo considerando a soma do produto das RTMs com seu respectivo peso nos três pontos de estudo no período seco (10/9/11 e 24/9/11) e chuvoso (17/11/11 e 1/12/11).

4. Discussão

Em relação aos parâmetros físicos e químicos, o ponto P1 apresentou boa qualidade de água. Embora não tenha apresentado efeito de toxicidade na água, a toxicidade aguda e crônica verificadas no sedimento e a presença de metais e arsênio demonstrou a fragilidade deste ambiente. Esse fato se agrava, se considerarmos que é um córrego utilizado para

consumo e irrigação, localizado dentro de uma propriedade rural. Sedimento e solo foram os compartimentos mais contaminados com metais.

A ingestão de água contaminada, especialmente quando extraída de aquíferos, tem sido a principal fonte de contaminação humana por arsênio na América Latina, sendo os efeitos mais severos em crianças causando disfunções cognitivas (McCintock *et al.*, 2012). Karim (2000) e Ahmed *et al* (2006) observaram forte relação entre ingestão de água contaminada por arsênio (10,0 a 2000,0 $\mu g.L^{-1}$) e lesões na pele, câncer e outro problemas oriundos do envenenamento crônico por arsênio.

Ahmed *et al* (2006) verificaram que a população de Uttar Pradesh, Índia, estava exposta a concentrações médias de arsênio acima de 10 $\mu g.L^{-1}$ por meio de poços artesianos e verificaram que a idade do poço era diretamente proporcional a intensidade da contaminação. Na região do presente estudo, é muito comum a presença de consumo de água por meio de poços.

Outro aspecto preocupante foi a inclusão de metais e arsênio na categoria crítica em água, sedimento e principalmente solo. Contudo, os contaminantes no solo podem não estar biodisponíveis em P1, já que Alves e Rietzler (2013) não verificaram efeito de toxicidade neste compartimento, considerando o mesmo período de estudo.

O segundo ponto amostrado, P2 apresentou altos valores de dureza, fósforo e os maiores valores de metais e arsênio em água e sedimento. Entretanto, verificou-se efeito de toxicidade apenas em duas amostras de água, sendo que a redução da toxicidade pode estar relacionada à elevada dureza. A presença de nutrientes pode atuar também quelando os metais presentes. Al-Reasi *et al* (2013) verificaram que a matéria orgânica tem um papel relevante na redução da toxicidade de metais. Em relação ao sedimento, os resultados de toxicidade aguda e crônica indicaram estar relacionados à contaminação por metais.

Assim como no ponto 1, sedimento e solo do ponto P2 foram os mais contaminados. Embora maior turbidez tenha sido observada no período seco, a maior concentração de metais ocorreu no período chuvoso, não podendo estar relacionada à ressuspensão de metais do sedimento. A verificação de 100% de frequência de QA crítica para As e Mn em água e As, Cr e Ni em solo demonstraram o elevado risco ecológico deste ponto. As, Mn e Cr têm reconhecidos efeitos carcinogênicos e podem provocar lesões na pele e órgãos, além de outras disfunções (Gad, 1989; Legget, 2011; McCintock *et al.,* 2012; Rodríguez-Barranco *et al,*2013). Já o Cu, que esteve 100% na categoria Alerta, esteve em concentrações abaixo da ED50 do anelídeo *Echytraeus albidus* (Ruyter *et al.,* 2013).

No sedimento, a categoria alerta foi predominante para a maioria dos metais. A elevada contaminação por metais e arsênio no solo foi corroborado pelo efeito crônico observado por Alves e Rietzler (2013). A presença de arsênio nesta região está associada principalmente a atividade de mineração de ouro, típica do quadrilátero ferrífero (McCintock *et al.,* 2012).

A contaminação do solo também pode levar a acumulação de arsênio em espécies vegetais cultivadas no solo da região. Rahman *et al* (2008) observaram acúmulo de arsênio em diferentes partes de arroz cultivados em solo contaminado com arsênio, e verificaram, em laboratório, que na presença de fertilizantes com fosfato esse acumulo era intensificado.

Vasconcelos e Dechamps (2007) observaram acumulo de arsênio em hortaliças cultivadas por moradores do município de Barra Feliz, local onde se localizam os pontos amostrados, tendo os valores variado de 1,4 a 39,2 $mg.Kg^{-1}$ em folhas de alface e de 1,8 a 12,0 $mg.Kg^{-1}$ em folhas de couve.

No ponto P3, foi verificado efeito de toxicidade aguda em todas as amostras de água, embora os valores de dureza tenham sido mais elevados, ocorrendo efeito oposto ao observado por Deleebeeck *et al* (2007) que verificaram redução da toxicidade de Ni em

cladóceros com aumento da dureza, e Clifford e Mc Geer (2009), que verificaram redução da toxicidade de Zn à *Daphnia pulex* com aumento das concentrações de Ca^{+2} e Mg^{+2}.

Da mesma forma, Schwartz e Vigneault (2007) verificaram redução de toxicidade de Cu à *Ceriodaphnia dubia* com adição de íons Mg. Park *et al.* (2009) observaram redução da toxicidade de Cu e Cr à *Daphnia magna* com aumento da dureza, embora a relação deste parâmetro com Cr tenha sido mais evidente. Por outro lado, Winner (1985) avaliando efeito de toxicidade de cobre à cladóceros em água de diferentes durezas, não observou redução de toxicidade do metal com o aumento deste parâmetro.

A elevada concentração de Mg e alcalinidade indicou presença de carbonatos desse metal. A toxicidade pode estar relacionada à presença de Mn, já que foi o único metal que apresentou 100 % de QA crítica em água. No ambiente, Mn pode provocar stress oxidativo em peixes, provocando danos nos tecidos e órgãos (Vieira *et al.*, 2012).

Manganês, embora seja um elemento traço, necessário ao metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios, em excesso, está associado a uma série de doenças neuromotoras, como síndrome de Parkinson (Legget, 2011). Rodríguez-Barranco *et al* (2013) através de uma meta análise, verificaram que um aumento de 50% dos níveis de arsênio na urina está associado a um decréscimo de 0,4 % do quociente de inteligência (QI) em crianças entre 5 e 15 anos, enquanto um aumento de 50 % de manganês na urina está associado a um decréscimo de 0,7 % de QI em crianças entre 6 e 13 anos.

Outros parâmetros que podem ter causado toxicidade foram as elevadas concentrações de amônia. Hermanutz *et al* (1987), observaram redução no crescimento de populações de cladóceros na presença de concentrações de amônia a partir de 0,019 $mg.L^{-1}$, enquanto Ostrensky e Wasielesky Jr (1995) verificaram 50 % de toxicidade em embriões de *Penaeus paulensis* em concentrações de 0,3 $mg.L^{-1}$. Por outro lado, Al e Fe na água também podem provocar efeito de toxicidade. Oberholster *et al* (2013) verificaram acumulo de alumínio e

ferro em peixes do lago Loskop, Africa do Sul, e associaram esse acumulo à presença de inflamações no corpo do animal.

O solo foi o compartimento mais contaminado, seguido da água, apresentando elevadas concentrações de alumínio e manganês. Contudo, Alves e Rietzler (2013) não verificaram efeito de toxicidade em P3 para *Eisenia andrei*, mesmo com frequência de QA crítica de 100% para Cr e Cd e 75% para Ni. Wu *et al* (2012), avaliando danos no DNA de *Eisenia fetida* expostas a cobre e cádmio, verificaram efeito sinérgico entre os metais quando Cd estava em baixas concentrações e Pb em alta, e efeito antagônico quando Cd estava em altas concentrações em relação a Pb, situação observada no presente estudo.

Por outro lado, a presença de altas concentrações de Mg podem reduzir a toxicidade dos outros metais. Wang *et al* (2010) observaram redução da toxicidade de Zn à raízes de cevada quando cultivadas em soluções enriquecidas com Mg e Ca.

Considerando os metais manganês e ferro, embora muito comuns em áreas de minas, a remoção do primeiro pode se tornar um problema, já que ao contrário do ferro, o manganês encontra-se na forma insolúvel somente em pH acima de 8 (Hallberg & Johnson, 2005). O pH esteve na maioria das vezes entre 6 e 8 em todos os pontos amostrados.

Os impactos observados nos pontos amostrados demonstraram a fragilidade do ecossistema e a susceptibilidade da população à contaminação. Chakraborti *et al* (2012), avaliando 181 pessoas em Karnataka, Índia, obsevaram que 58,6% apresentavam lesões decorrentes da contaminação com arsênio, oriundo de uma mina de ouro local. Embora os níveis de arsênio no solo estivessem abaixo dos observados por estes autores, as concentrações desse ametal na água foram semelhantes (entre 10 e 300 $\mu g.L^{-1}$), indicando o risco de contaminação da população. Contudo, não se pode afirmar que os efeitos de toxicidade observados em P1 e P2 possam estar relacionados exclusivamente à contaminação

por arsênio, já que a CE50 desse ametal para *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* foi maior que os valores encontrados no ambiente.

Por outro lado, a concentração de arsênio no solo foi maior que a observada por Pearce *et al* (2010), em estudo onde os autores associaram a contaminação desse ametal (entre 3,3 e 130,0 $mg.Kg^{-1}$)no solo de casas próximas a uma mina de ouro em Victória, Austrália, à contaminação de unhas das crianças residentes. Em relação ao sedimento, os valores de As estiveram abaixo dos verificados por Toujaguez *et al.* (2013) em Delita, Cuba, mas semelhantes aos verificados por Bright *et al* (1994) em uma bacia que recebia efluente de mineração de ouro no Canadá. Neste mesmo estudo, os autores observaram valores máximos de arsênio no sedimento a uma distância média de 3 Km da fonte contaminante. O ponto P2, do presente estudo, recebe o efluente da mina e transporta-o até um afluente do Rio Conceição em Santa Bárbara, MG.

Todavia, a contaminação da água subterrânea é outro fator que não deve ser ignorado. Pauwels *et al.* (2010) observaram que o arsênio precipitado aos óxidos de ferro no interior da galeria de uma mina de ouro abandonada, era liberado para água em contato com NO_3 oriundo de atividades de agricultura na região acima. Dessa forma, a atividade de pequenos agricultores na região de Barra Feliz e Brumal deve ser avaliada.

Os três pontos apresentaram considerável contaminação por metais. Mas, ao contrário do esperado, não foi detectado arsênio em P3, ponto localizado abaixo de uma bacia de contenção. A baixa concentração de metais no sedimento neste ponto, justifica-se pelo fato de ser constituído em sua maior parte por areia, reduzindo a retenção de contaminantes. Por outro lado, P1, localizado dentro de uma propriedade e utilizado para consumo e irrigação, apresentou níveis de arsênio acima dos limites estabelecidos pela legislação. Isso demonstra a necessidade de estudos de avaliação de risco mais detalhados nessas áreas. Considerando-se

que P1 é utilizado para consumo, deve ser uma área priorizada, seguida por P2 que influencia diretamente propriedades particulares.

A região de Brumal e Santa Bárbara, em especial o distrito de Barra Feliz, está seriamente impactada pelas atividades de mineração de ouro local, sendo necessária a adoção de políticas voltadas à redução e mitigação destes impactos. Talvez o maior impasse para tal medida, seja a ausência de diálogo entre empresas e comunidade local. Garvin *et al.* (2009) avaliando a relação entre comunidade e empresa mineradora de ouro em Gana, África, constatou que embora a população reconheça alguns benefícios da atividade minerária, também demonstra insatisfação com alterações ambientais, sociais e econômicas provocadas pela atividade. As empresas, por outro lado, não permitem uma abertura ao diálogo. Esse mesmo autor ressalta a importância de agências governamentais na intermediação desse diálogo.

Assim, um estudo sobre a contaminação da população de Barra Feliz é fundamental como forma de avaliar os impactos diretos na saúde da população através do acúmulo de arsênio e metais, e dessa forma promover políticas voltadas ao tratamento da comunidade local. Essas medidas devem abranger desde redução de contaminação em ambientes aquáticos, produção de hortas suspensas para evitar contato com solo contaminado até inserção de elementos antioxidantes na dieta das pessoas expostas, como ácido fólico, sugerido por Da Sacco *et al* (2013).

5. Conclusões

A região de Barra Feliz encontra-se ameaçada pela atividade de mineração de ouro. A elevada contaminação da água e sedimento aliada a presença de efeitos de toxicidade demonstrou a baixa qualidade ambiental desses ambientes. A presença de arsênio acima de limites estabelecidos pela legislação CONAMA (357/05 e 344/04), principalmente no ponto

P1, onde a água é utilizada para consumo e irrigação, é fator agravante da situação. Considerando ainda que esses ambientes são lóticos, a tendência é que água e sedimentos contaminados transportem metais e arsênio para regiões cada vez mais distantes. Nesse sentido, é fundamental um estudo detalhado do atual nível de contaminação da comunidade do entorno, a fim de prevenir futuras doenças decorrentes da exposição crônica aos contaminantes.

6. Referências

ABNT. 1984. Determinação da dureza em água (Método complexométrico). NBR 5761. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 3

ABNT 2005. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera).NBR 13373. Associação Brasileira de Normas Técnicas: 14

ABNT. 2003. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). NBR 12713, Associação Brasileira de Normas Técnicas: 19.

Ahamed, S; Sengupta, MK; Mukherjee, A; Hossain, MA; Das, B; Nayak, B; Pal, A; Mukherjee, SC; Pati, S; Dutta, RN; Chatterjee, G; Mukherjee, A, Srivastava, R; Chakraborti, D. 2006. Arsenic groundwater contamination and its health effects in the state of Uttar Pradesh (UP) in upper and middle Ganga plain, India: A severe danger. Science of the Total Environment, 370: 310–322.

Almeida, CA; Rocha, O. 2006. Estudo Comparativo da Qualidade dos Sedimentos dos Reservatórios do Rio Tietê (SP). Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicoly, 1 (2): 141-145.

Al-Reasi, HA; Wood, CM; Smith, DS. 2013. Characterization of freshwater natural dissolved organic matter (DOM): Mechanistic explanations for protective effects against metal toxicity and direct effects on organisms. Environment International, 59: 201–207.

Alves, RH.; Rietzler, AC. 2013. Ecotoxicological assessment of soils around mining areas Annual Activity Report 2011-2012. 47-48. ISSN: 2179-2771.

Avcı, D; Adaman, F; Özkaynak, B. 2010. Valuation languages in environmental conflicts: How stakeholders oppose or support gold mining at Mount Ida, Turkey. Ecological Economics, 70: 228–238.

Bright, DA; Coedy, B; Dushenko, WT; Reimer, KJ. 1994. Arsenic transport in a watershed receiving gold mine effluent near Yellowknife, Northwest Territories, Canada. The Science of the Total Environment 155: 237-252.

Chakrabortia, D; Rahmana, MM; Murrilla, M; Siddayyac, RD; Patil, SG; Sarkare, A; Dadapeer, HJ; Yendigeri, S Ahmed, R; Das, KK. 2012. Environmental arsenic contamination and its health effects in a historic gold mining area of the Mangalur greenstone belt of Northeastern Karnataka, India, Journal of Hazardous Materials, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.002

Champan, PM. 1990. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. The Science of the Total Environment, 97/98: 815-825.

Clifford, M; McGeer, JC. 2009. Development of a biotic ligand model for the acute toxicity of zinc to *Daphnia pulex* in soft waters. Aquatic Toxicology, 91: 26–32.

CONAMA 344 (2004). Conselho Nacional de Meio Ambiente. "Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências." 25 de março de 2004 - Publicação DOU nº 087, de 07/05/2004, págs. 56-57. Alterada pela Resolução nº 421 de 2010. Revogada pela Resolução nº 454 de 2012.

CONAMA 357 (2005). Conselho Nacional de Meio Ambiente, "Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.". 17 de março de 2005 - Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63 - Alterada pelas Resoluções nº 370, de 2006, nº 397, de 2008, nº 410, de 2009, e nº 430, de 2011. Complementada pela Resolução nº 393, de 2009.

CONAMA 420 (2009). Conselho Nacional de Meio Ambiente. "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." 28 de dezembro de 2009 - Publicação DOU nº 249, de 30/12/2009, págs. 81-84.

Da Sacco, L; Baldassarre, A; Masotti, A. 2013. Diet's role in the toxicity of inorganic arsenic (iAs): A journey from soil to children's mouth. Journal of Geochemical Exploration, 131: 45–51.

Deleebeeck, NME; Muyssen; BTA; De Laender; F; Janssen; CR; De Schamphelaere, KAC. 2007. Comparison of nickel toxicity to cladocerans in soft versus hard surface waters. Aquatic Toxicology, 84: 223–235.

Dunnett, C. W. "New Tables for Multiple Comparisons with a Control". Biometrics, 1964, 20 (3) 482-491.

Gad, SC. 1989. Acute and chronic systemic chromium toxicity. The Science of the Total Environment, 86: 149-157.

Garvin, T; McGee, TK; Smoyer-Tomic, KE; Aubynn, EA. 2009. Community ecompany relations in gold mining in Ghana. Journal of Environmental Management, 90: 571-586.

Hall, AH. 2002. Chronic arsenic poisoning. Toxicology Letters, 128: 69–72.

Hallberg, KB; Johnson, DB. 2005. Biological manganese removal from acid mine drainage in constructed wetlands and prototype bioreactors. Science of the Total Environment 338: 115– 124.

Hermanutz, RO; Hedtke, SF; Arthur, JW; Andrew, RW; Allen, KN. 1987. Ammonia Effects on Microinvertebrates and Fish in Outdoor Experimental Streams. Environmental Pollution, 47: 249-283.

Horning, W. B.; Weber, C. I. "Short-term methods for estimating chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms". Environmental Monitoring and Support Laboratory, U.S.Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio, 1985, EPA/600/4-85/014.

Jain, CK; Ali, I. 2000. Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. Water. Resorces, 34 (17): 4304-4312.

Karim, MDM. 2000. Arsenic in groundwater and health problems in Bangladesh. Water Resources, 34, (1): 304-310.

Kumah, A. 2006. Sustainability and gold mining in the developing world. Journal of Cleaner Production, 14: 315-323.

Legget, RW. 2011. A biokinetic model for manganese. Science of the Total Environment. 409: 4179–4186.

McClintock, TR; Chen, Y; Bundschuh, J; Oliver, JT; Navoni, J; Olmos, V; Lepori, EV; Ahsan, H; Parvez, F. 2012. Arsenic exposure in Latin America: Biomarkers, risk assessments and related health effects. Science of the Total Environment, 429: 76–91.

Miserendino, RA; Bergquist, BA; Adler, SE; Guimarães, JRD; Lees, PSJ; Niquen, W; Velasquez-López, PC; Veiga, MM. 2013. Challenges to measuring, monitoring, and addressing the cumulative impacts of artisanal and small-scale gold mining in Ecuador. Resources Policy, http://dx.doi.org/10.1016/j.resourpol.2013.03.007i.

Mudd, GM. 2007. Global trends in gold mining: Towards quantifying environmental and resource sustainability? Resources Policy, 32: 42–56.

Oberholster, PJ; Myburgh, JG; Ashton, PJ; Coetzee, JJ; Botha, AM. 2013. Bioaccumulation of aluminium and iron in the food chain of Lake Loskop, South Africa. Ecotoxicology and Environmental Safety, 75: 134–141.

Ostrensky, A; Wasielesky Jr, W. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Perez-Farfante, 1967. Aquaculture, 132: 339-347.

Park; EJ; Jo, HJ; Jung, J. 2009. Combined effects of pH, hardness and dissolved organic carbon on acute metal toxicity to *Daphnia magna*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 15: 82–85.

Pauwels, H; Pettenati, M; Greffié, C. 2010. The combined effect of abandoned mines and agriculture on groundwater chemistry. Journal of Contaminant Hydrology, 115: 64–78.

Pearce, DC; Dowling, K; Gerson, AR; Sim, MR; Sutton, SR; Newville, M; Russell, R; McOrist, G. 2010. Arsenic microdistribution and speciation in toenail clippings of children living in a historic gold mining area. Science of the Total Environment 408: 2590–2599.

Rahmana, MA; Hasegawaa, H; Rahmanb, MM; Mazid Miahc, MA; Tasmind, A. 2008. Arsenic accumulation in rice (Oryza sativa L.): Human exposure through food chain. Ecotoxicology and Environmental Safety, 69: 317–324.

Rodríguez-Barranco, M; Lacasaña, M; Aguilar-Garduño, C; Alguacil; J; Gil, F; González-Alzaga, B; Rojas-García, A. 2013. Association of arsenic, cadmium and manganese exposure with neurodevelopment and behavioural disorders in children: A systematic review and meta-analysis. Science of the Total Environment, 454–455: 562–577.

Ruyters, S; Salaets, P; Oorts, K; Smolders, E. 2013. Copper toxicity in soils under established vineyards in Europe: A survey. Science of the Total Environment, 443: 470–477.

Schwartz, ML; Vigneault, B. 2007. Development and validation of a chronic copper biotic ligand model for *Ceriodaphnia dubia.* Aquatic Toxicology, 84: 247–254.

Tallini, K; Guimarães, L.S.P.; Fachel, J.M.G.; Rodriguez, M.T.R. 2012. Estabelecimento de Protocolo de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático tendo o Programa de Monitoramento do Rio Jacuí, São Jerônimo (RS). Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicoly. v. 7, n. 1, 55-63.

Toujaguez, R;. Ono, FB; Martins, V; Cabrera, PP; Blanco, AV; Bundschuh, J; Guilherme, LRG. 2013. Arsenic bioaccessibility in gold mine tailings of Delita, Cuba, Journal of Hazardous Materials, http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat. 2013.01.045.

USEPA - Unites States Enviromental Protection Agency. 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates. Washington. D.C.133p.

Vasconcelos, OMSR; Dechamps, E. 2007. Avaliação de arsênio total em vegetais e águas de abastecimento para população na região de Santa Bárbara - MG – Brasil. 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 02 a 07 de setembro de 2007, EXPOMINAS, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Vieira, MC; Torronteras, R; Córdoba, F; Canalejo, A. 2012. Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. Ecotoxicology and Environmental Safety, 78: 212–217.

Wang, X; Li, B; Ma, Y; Hua, L. 2010. Development of a biotic ligand model for acute zinc toxicity to barley root elongation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 1272–1278.

Weber, C. I. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, 1993, EPA/600/4-90/027F.

Winner, RW. 1985. Bioaccumulation and toxicity of copper as affected by interactions between humic acid and water hardness. Water Resource, 19 (4): 419-455.

Wu, B; Liu, Z; Xu, Y; Li, DS; Li, M. 2012. Combined toxicity of cadmium and lead on the earth worm *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta). Ecotoxicology and Environmental Safety, 81: 122–126.

Zar, J.H. Biostatistical analysis. 2nd edition. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1984, 130 p.

7. Material suplementar

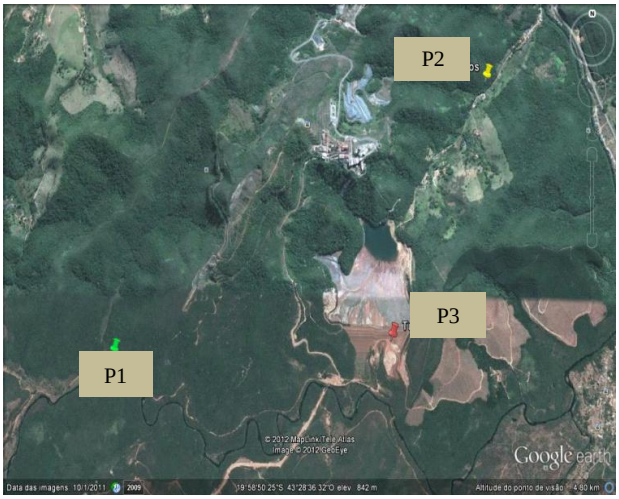

Figura 7,1: Área de estudo. Região de Brumal destacando local dos pontos amostrados (P1, P2 e P3). A descrição dos pontos se encontra na Tabela 1.

Figura 7.2: Córrego referente à P1, localizado dentro de uma propriedade rural, sendo a água utilizada na irrigação. Foto: Maione W. Franco.

Figura 7.3: Córrego referente a P2, localizado em uma propriedade particular no município de Brumal, MG. Foto: Maione W. Franco.

Figura: 7.4: Córrego referente a P3 (à esquerda), localizado abaixo de uma bacia de contenção (à direita). Foto: Arquivos pessoais (à esquerda) e Maione W. Franco (à direita).

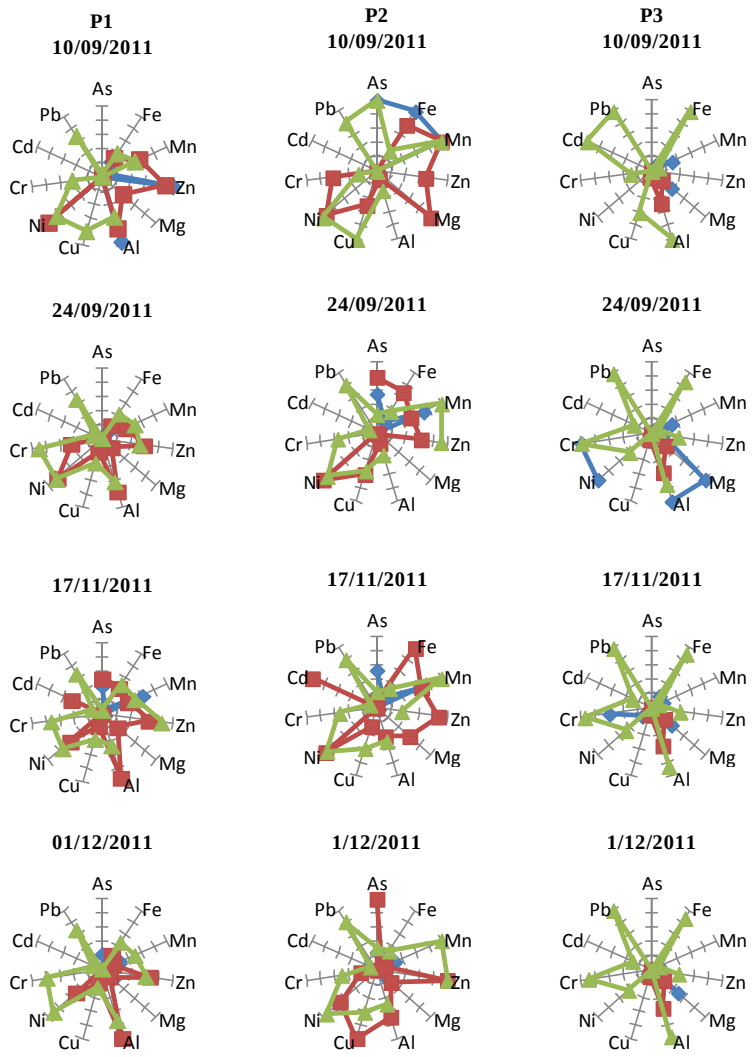

Figura 7.5: Valores de RTMs de arsênio e metais em água (linha azul), sedimento (linha marrom) e solo (linha verde) nos três pontos amostrados. A análise contempla períodos secos (10/9/2011 e 24/9/2011) e períodos chuvosos (17/11/2011 e 1/12/2011). Os dados que subsidiaram a produção das RTMs de solo foram fornecidos por Alves (dados não publicados).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abordagem ecotoxicológica tem se mostrado bastante eficiente na avaliação de impactos das atividades de mineração. Diversos pesquisadores tem se dedicado nesse contexto a desenvolver e aplicar diferentes metodologias, que envolvem desde exposição de organismos aos efluentes contaminados a análises mais complexas em nível celular e molecular. O uso de ferramentas ecotoxicológicas permite a avaliação das interações entre os contaminantes, principalmente metais, em áreas de mineração com outros fatores como presença de nutrientes, variações de pH, temperatura, dureza, entre outros.

O arsênio, um ametal extremamente tóxico e muito comum em minerações de ouro, e embora tenha apresentado toxicidade a cladóceros inferior ao esperado quando isolado, na presença de ferro demonstrou o potencial efeito sinérgico entre essas substâncias, reforçando a necessidade da manutenção de limites restritivos da legislação brasileira. Além disso, as respostas contrárias entre as espécies de cladóceros utilizadas às diferentes formas de arsênio demonstram a necessidade de se utilizar em testes de toxicidade mais de um tipo de organismo-teste.

As áreas influenciadas pela atividade de mineração de ouro apresentaram-se fortemente contaminadas por metais e arsênio. A atividade de beneficiamento, localizada na bacia do rio das Velhas no município de Nova Lima, MG se mostrou tão impactante quanto a atividade de extração localizada na bacia do rio Doce, em Brumal, MG, que por sua vez, apresentou elevado impacto mesmo tendo permanecido desativada por cinco anos. Considerando que a mina foi reativada após o início desse estudo, era de se esperar um aumento na toxicidade verificada, o que não ocorreu, reforçando a ideia de que minas desativadas permanecem como fontes contaminantes.

Ainda em relação aos estudos de caso apresentados, a abordagem ecotoxicológica demonstrou eficácia na avaliação do impacto complementando as análises químicas.

Considerando que o sedimento do córrego da Mina, dentre todas as áreas avaliadas, apresentou a mais elevada contaminação por metais, não foi observado efeito de toxicidade aguda, ao contrário do que foi verificado nos córregos da região de Brumal.

Dessa forma, fica evidente que os efeitos tóxicos em áreas de mineração, não são decorrentes unicamente da contaminação por metais, existindo a interação entre outros fatores. Nesse contexto a abordagem ecotoxicológica é uma ferramenta eficiente na avaliação de risco ecológico de áreas influenciadas por atividades minerarias.

ANEXOS

Cultivo de organismos-teste

Os organismos-teste foram cultivados em béqueres de 1L contendo água proveniente de uma nascente localizada no bairro Horto, no município de Belo Horizonte, MG. Os cultivos de *Ceriodaphnia silvestrii*, foram mantidos em densidade de 100 ind.L^{-1}, enquanto *Daphnia similis* na densidade de 30ind.L^{-1}.

As duas espécies foram alimentadas com um composto (ração para peixes + levedura), adicionando-se 0,1 ml.L^{-1} para *D. similis* e 1 ml.L^{-1} no caso de *C.silvestrii;* e *Pseudokirchneriella subcapitata* na concentração de 10^5 células.mL^{-1}. Os cultivos foram mantidos em câmaras de incubação com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25,0 ± 1ºC para *C.silvestrii* e 22,0 ± 1 ºC para *D. similis.* A água de cultivo utilizada apresentou valores de pH e dureza, em torno de 7,0 e entre 32 e 36 mg$CaCo_3$.L^{-1}, respectivamente.

Em relação aos quironomídeos, os organismos foram cultivados em bandejas plásticas de 45x35x6cm, contendo aproximadamente 1500g de sedimento esterilizado e quatro litros de água de cultivo, mantida sob aeração. As bandejas foram alimentadas diariamente com 40ml de ração para peixes, sendo adicionada, na montagem das bandejas, 40ml de algas clorofíceas (*Pseudokirchneriella subcapitata*) na concentração de 10^5 cél.mL^{-1}.

Os cultivos de quironomídeos em laboratório foram mantidos com sedimento proveniente da Estação Ecológica da Universidade Federal de Minas Gerais, o qual é esterilizado (autoclavado) para o reinício dos cultivos por três vezes e em seguida calcinado para remoção da matéria orgânica após este período.

Testes de sensibilidade

Periodicamente foram conduzidos testes de sensibilidade (Figura 1) com os organismos-teste utilizando cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 1,2; 1,4; 1,6; 1,8 e 2mg.L^{1} para *Ceriodaphnia silvestri* e 1,4; 1,7; 2,0; 2,3 e 2,6 mg.L^{-1} para *Daphnia similis*, seguindo normas da ABNT (2003). O programa utilizado para o cálculo de CE50 (48h), que

corresponde a concentração efetiva que causa efeito de toxicidade a 50% da população, foi o "LC50 Trimmed Spearman-Karber Method. 1.5".

Para a montagem dos testes foram utilizados copos de plásticos de 50ml, contendo proporções de NaCl e água de cultivo de acordo com as concentrações especificadas acima, considerando-se duas réplicas contendo vinte organismos para cada concentração, incluindo o Controle. Após 48 horas, foram quantificados os indivíduos imóveis ou mortos. Os testes de sensibilidade foram conduzidos com organismos com idade entre 6 e 24h, a temperatura de 23± 1^{o}C, no escuro.

Os testes de sensibilidade conduzidos com quironomideos seguiram as normas da USEPA (1994). Os testes foram conduzidos utilizando copos de plásticos de 50ml, contendo 20ml de água de cultivo no grupo Controle e 20ml de solução de cloreto de potássio (KCl) nas concentrações 2, 4, 6, e 8g/L. Cada concentração consistiu em cinco replicas contendo um organismo cada. Após 96 horas, foi quantificada a mortalidade dos organismos.

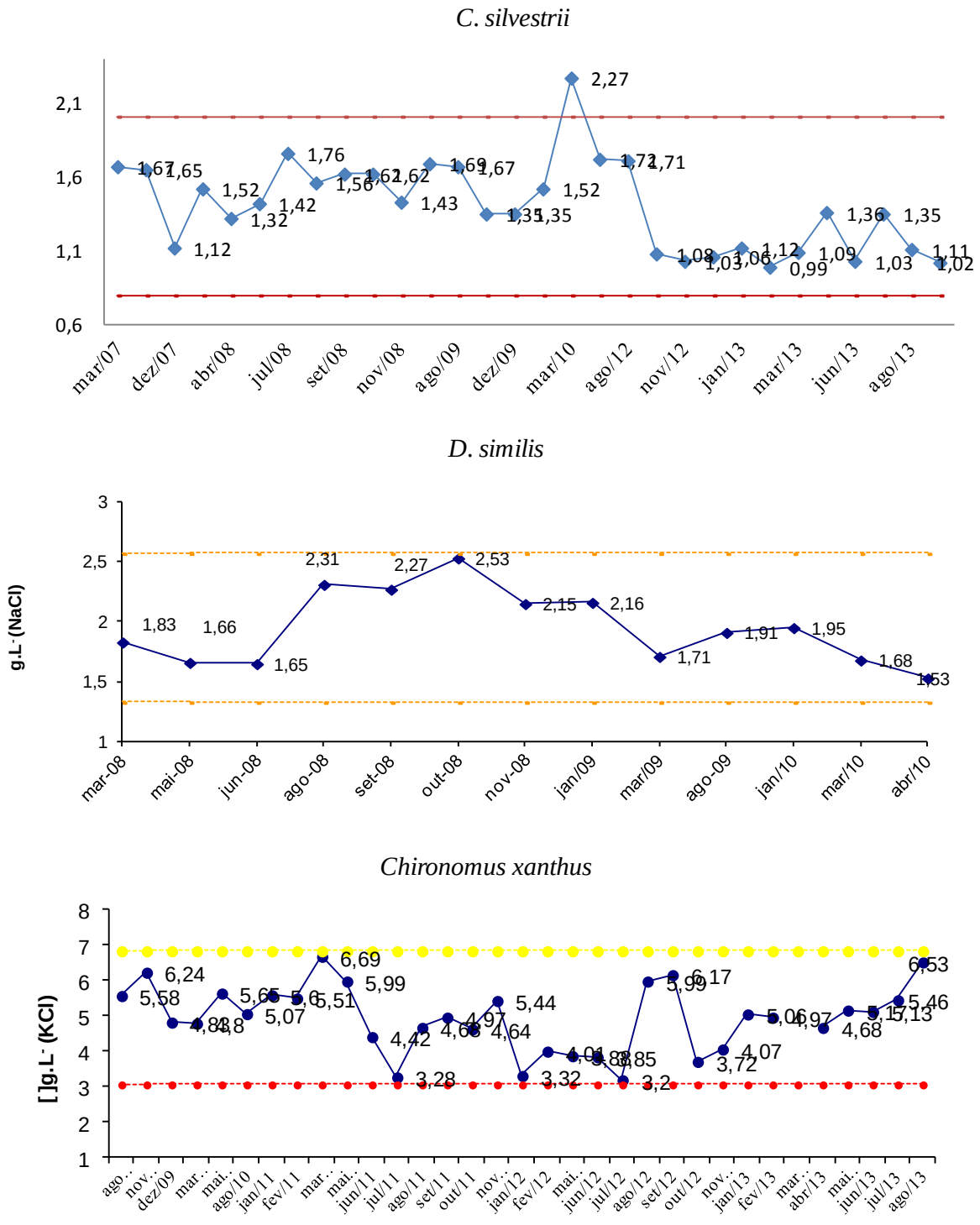

Figura 1: Carta-controle dos organismos-teste utilizados no estudo.

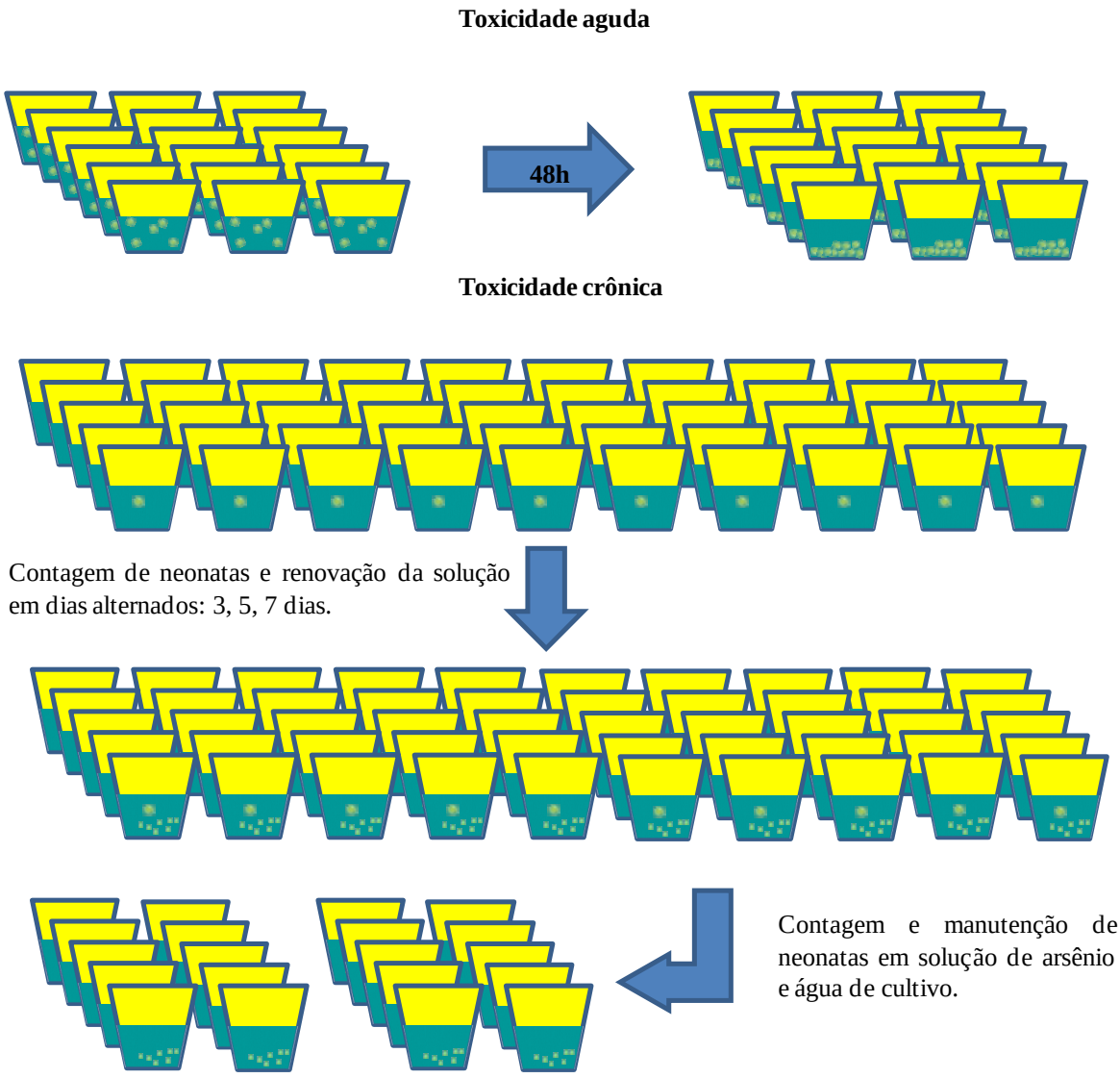

Figura 2: Esquema de testes de toxicidade aguda (acima) e crônica (abaixo) conduzidos com soluções de sais de arsênio.

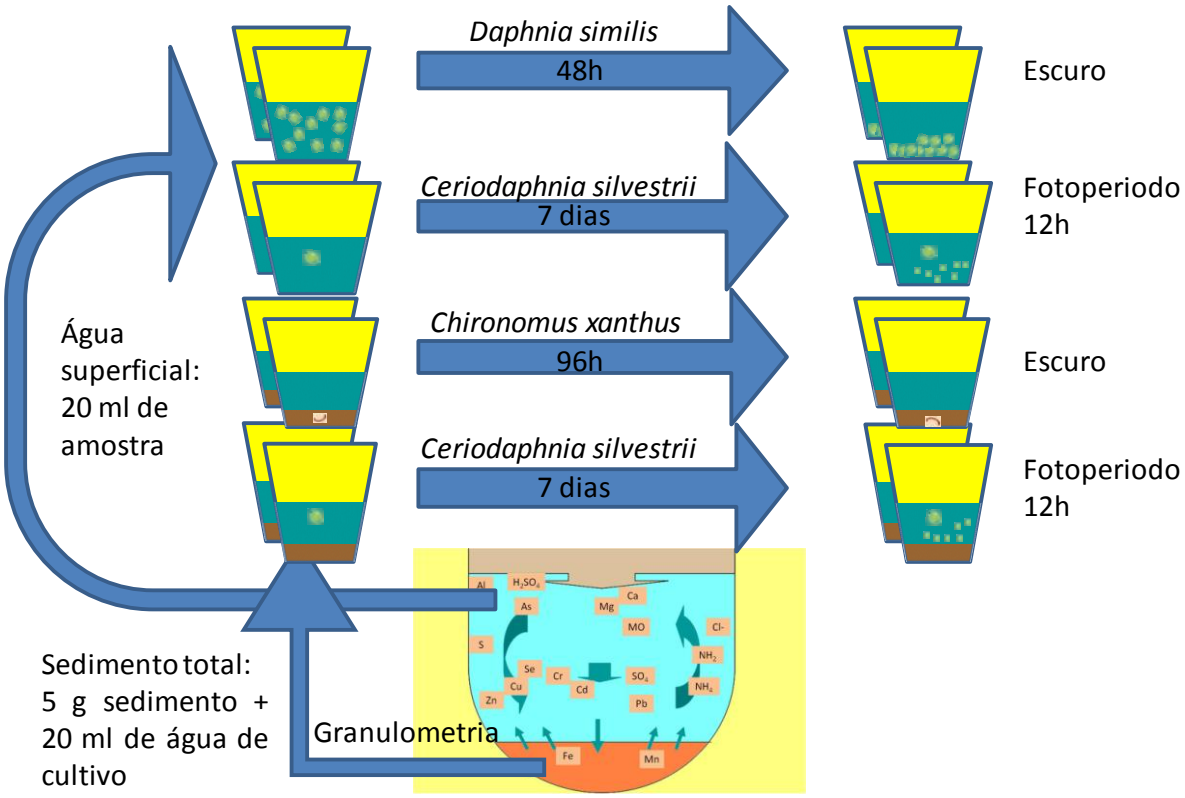

Figura 3: Esquema de ensaios de toxicidade aguda e crônica conduzidos com amostras ambientais de água e sedimento.

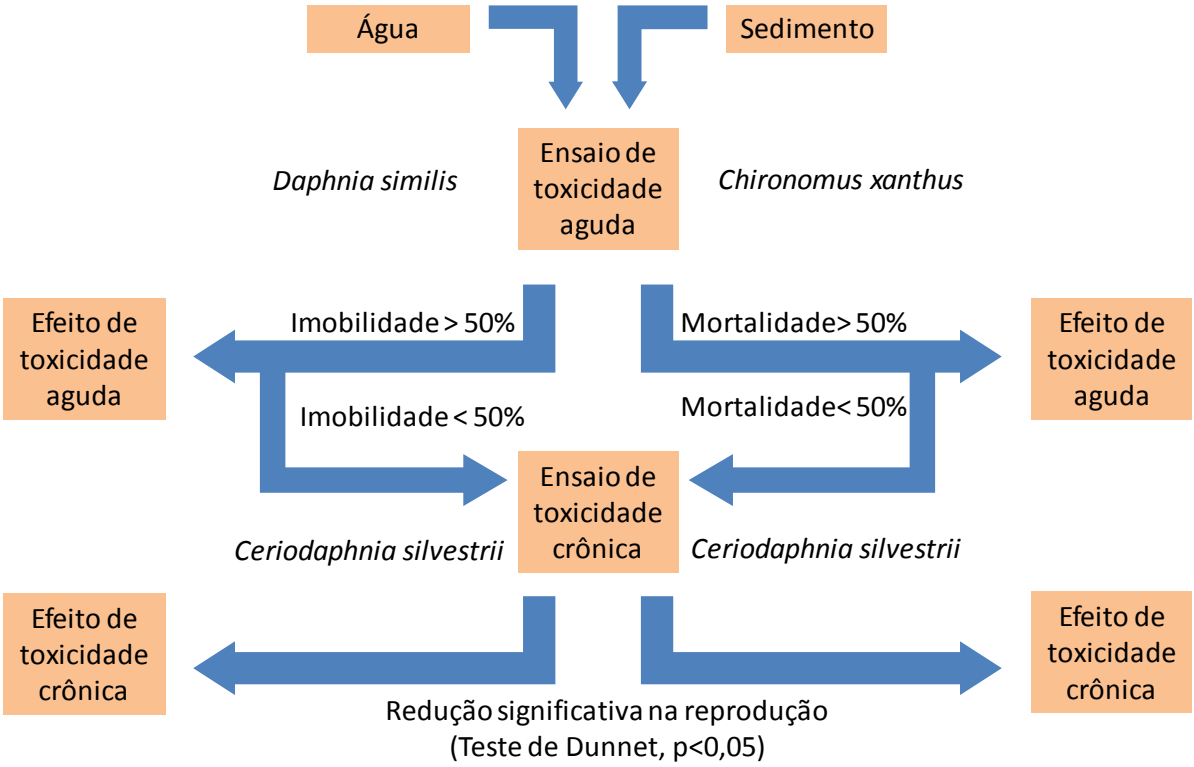

Figura 4: Esquema dos critérios utilizados para condução de ensaios de toxicidade com as amostras ambientais de água e sedimento. Foram conduzidos ensaios de toxicidade aguda com as amostras de água e sedimento, utilizando *D. similis* e *C. xanthus* respectivamente. Quando a imobilidade (*Daphnias*) ou mortalidade (*Chironomus*) ultrapassou 50% foi considerado efeito de toxicidade aguda, caso contrário foi conduzido ensaios de toxicidade crônica com *C. silvestrii* e considerado efeito de toxicidade crônica, a reprodução inferior ($p<0,05$) ao Controle.