

## VI-160 - AVALIAÇÃO QUÍMICA, ECOTOXICOLÓGICA E GENOTOXICOLÓGICA DE SEDIMENTOS DE CAVAS DE MINERAÇÕES A CÉU ABERTO, GOIÁS, BRASIL

### **Viníciu Fagundes Bárbara<sup>(1)</sup>**

Engenheiro Ambiental pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Mestre em Engenharia do Meio Ambiente e Doutor em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Goiás. Professor do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, campus Goiânia. Perito Ambiental do Ministério Público de Goiás.

### **Maria Gizelda de Oliveira Tavares**

Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Química e Doutora em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Goiás. Professora da Universidade Federal de Goiás.

### **Daniela de Melo e Silva**

Bióloga pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Mestre em Biologia pela Universidade Federal de Goiás. Doutora em Biologia Animal pela Universidade de Brasília. Professora da Universidade Federal de Goiás.

### **Elieser Viegas Wendt**

Químico Industrial pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Mestre em Química pela Universidade Federal de Goiás. Pesquisador do Laboratório de Métodos de Extração e Separação da Universidade Federal de Goiás.

### **Nelson Roberto Antoniosi Filho**

Químico e Doutor em Química Analítica pela Universidade de São Paulo. Professor da Universidade Federal de Goiás. Pesquisador responsável pelo Laboratório de Métodos de Extração e Separação da Universidade Federal de Goiás.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua 75, nº 46 - centro - Goiânia - GO - CEP: 74055-110 - Brasil. Tel: (62) 3227-2861 - e-mail: [viniciu.fagundes@gmail.com](mailto:viniciu.fagundes@gmail.com).

### **RESUMO**

A indústria da mineração é conhecida pelos intensos impactos ambientais que desencadeia, principalmente quando desenvolve suas atividades a céu aberto. Cavas de minas são formadas em jazidas exauridas e podem se constituir em promissoras oportunidades de uso para a sociedade ou em preocupantes passivos ambientais. Embora essas bacias artificiais estejam aumentando numericamente em várias partes do mundo, ainda são pouco conhecidas, o que torna sua gestão ambiental desafiadora. O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a qualidade ambiental dos sedimentos de três cavas de ouro desativadas localizadas no município de Mara Rosa, Goiás, Brasil, mediante análises químicas, ecotoxicológicas e genotoxicológicas. Para tanto, amostras foram coletadas no auge da estação seca e submetidas à análise de metais e ânions. Na sequência, testes ecotoxicológicos agudos e genotoxicológicos – Ensaio Cometa – foram desenvolvidos com exemplares de peixes da espécie *Danio rerio*, nas concentrações de 3,1%; 6,2%; 12,5%; 25,0%; 50,0% e 100,0%, além do grupo controle. Os resultados indicam que as três cavas estão ambientalmente comprometidas, especialmente o Lago Azul, cujas águas e sedimentos se mostram submetidos a intenso processo de condicionamento geológico. Os dados obtidos com os bioensaios não comprovaram a ecotoxicidade dos sedimentos de nenhuma das cavas, mas apenas alterações comportamentais nos organismos-teste expostos às concentrações de 25,0%, 50,0% e 100,0% das amostras do Lago Azul. Em relação aos sedimentos, foram detectados danos ao DNA nos três ambientes pesquisados, sendo que o Lago Azul se mostrou genotoxicologicamente mais comprometido.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ensaio Cometa, Passivos Ambientais, Ecotoxicologia.

## INTRODUÇÃO

Devido à crescente demanda por minerais, essa atividade econômica vem se configurando como uma das principais desenvolvidas por muitos países. O Brasil, detentor de um dos maiores potenciais geológicos do mundo, se destaca nesse contexto e deverá ampliar consideravelmente seus complexos minerários nos próximos anos (IBRAM, 2013). Contudo, os desafios da gestão ambiental do setor são grandes e requerem esforços conjuntos de toda a sociedade. Não são raros os casos de acelerada diminuição da qualidade de recursos naturais como solo e águas superficiais e subterrâneas em áreas mineradas, especialmente na fase de pós-operação de empreendimentos que, muitas vezes, são abandonados sem que tenham sido implementadas todas as medidas de controle e recuperação ambiental necessárias (CALIJURI e CUNHA, 2013).

Minerações auríferas se destacam nesse contexto, pois o ouro normalmente está associado a rochas sulfetadas originalmente em equilíbrio químico que, quando em contato com a água e o ar, podem fomentar o surgimento de drenagem ácida de mina (DAM). A DAM possui elevado potencial de degradação ambiental, pois é ácida e rica em metais tóxicos dissolvidos, sendo responsável pelo surgimento de inúmeras áreas contaminadas ao redor do mundo (SÁNCHEZ, 2008; ROMERO et al., 2010).

Cavas de mineração, apesar de ambientalmente complexas, vêm sendo cogitadas para uso como alternativas de recuperação ou em atividades humanas selecionadas. Todavia, estudos que buscaram mensurar o grau de comprometimento ambiental desses lagos artificiais ainda são raros na literatura científica (MOLLEMA et al., 2015), especialmente no tocante aos aspectos associados à qualidade de sedimentos.

Nesse sentido, autores como Esteves (2011) esclarecem que sedimentos integram um dos mais importantes compartimentos associados aos ecossistemas aquáticos, pois se constituem em um estoque temporalmente cumulativo de compostos químicos tóxicos. Por outro lado, ainda que a princípio a coluna d'água apresente boa qualidade, sedimentos contaminados acomodados no fundo podem se ressuspender devido a processos antrópicos, como de bombeamento de água, ou mesmo naturais, como de estratificação térmica (EDBERG et al., 2012) e, conseqüentemente, reintroduzir elementos tóxicos na água, tornando-a potencialmente prejudicial aos seres vivos.

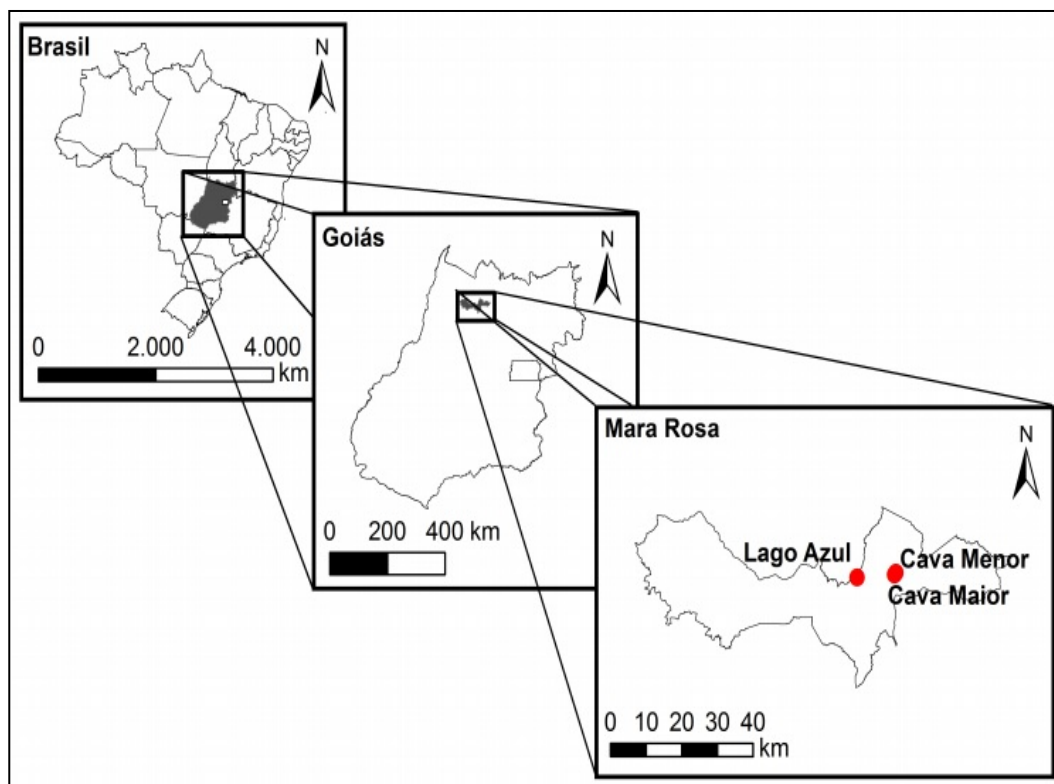
Dependendo do uso que se pretende dar às cavas, avaliações mais amplas e profundas são necessárias para que se compreenda melhor os riscos potenciais associados a esses ambientes. Nesse sentido, análises ecotoxicológicas são entendidas como alternativas avançadas de monitoramento e avaliação do meio natural, pois agregam aspectos nas avaliações ambientais, possibilitando obter respostas mais profundas sobre o recurso analisado. Bioensaios são desenvolvidos com organismos-teste específicos que, após expostos às substâncias de interesse, fundamentam o estabelecimento de relações de causa e efeito, permitindo antever os riscos potenciais a que o meio natural possa estar exposto caso entre em contato com elementos tóxicos (SÄMY et al., 2010).

Nesse sentido, Mozeto et al. (2006) esclarecem que elementos químicos como metais normalmente se encontram adsorvidos às partículas dos sedimentos ou dissolvidos entre seus poros, o que torna a avaliação ecotoxicológica dessas águas intersticiais muito importante. Contudo, embora algumas pesquisas tenham avaliado a qualidade química de sedimentos de cavas ao redor do mundo, os trabalhos que buscaram analisar conjuntamente seus aspectos químicos e ecotoxicológicos ainda são poucos e recentes (HERLORY et al., 2013; SKIPPERUD et al., 2013; GAGNAIRE et al., 2015). Ademais, considerando o potencial genotoxicológico desse compartimento ambiental, estudos com esse enfoque são desconhecidos.

A cidade de Mara Rosa (Goiás – Brasil) conviveu com extrações auríferas em garimpos de aluvião por décadas, porém, nos últimos anos essa atividade rudimentar deu lugar a grandes empresas de mineração a céu aberto que se instalaram na região, atualmente desativadas. O passivo ambiental oriundo das práticas de mineração desenvolvidas no Município não foi recuperado a contento, sendo constituído principalmente por três cavas situadas em sua área rural, nas quais se formaram lagos artificiais. Além disso, os sedimentos presentes nessas unidades, seus possíveis elementos tóxicos e suas relações de causa e efeito sobre organismos-teste padronizados nunca foram analisados à luz da Química e da Toxicologia Ambiental, o que torna seus efeitos ambientais potenciais desconhecidos. Assim, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a qualidade ambiental dos sedimentos de três cavas de ouro desativadas localizadas no município de Mara Rosa, Goiás, Brasil, mediante análises químicas, ecotoxicológicas e genotoxicológicas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os lagos de mineração existentes em Mara Rosa foram denominados neste estudo de Cava Maior (com área aproximada de 1,7 ha), Cava Menor (0,7 ha) e Lago Azul (2,8 ha) (figura 1). As Cavas Maior e Menor, exploradas até 1995, são isoladas e estão parcialmente circundadas por vegetação introduzida. O Lago Azul, o maior dos três, também foi formado nos anos 90 e é o principal ponto turístico de Mara Rosa.



**Figura 1: Localização da área de estudo: Cavas Maior, Menor e Lago Azul, situados no município de Mara Rosa, norte do Estado de Goiás.**

A área pesquisada se localiza na Bacia do Rio Tocantins, em uma sequência de idade Neoproterozoica que é parte integrante do Arco Magmático de Goiás, situado na província Tocantins. O solo local é constituído pela associação de Latossolos, Nitossolos, Plintossolos de textura argilosa, Gleissolos e Cambissolos associados a Neossolos Litólicos, conforme descrito por Viana et al. (1995).

Amostras de sedimentos foram coletadas em cada cava no auge da estação seca (EDBERG et al., 2012), em campanha amostral realizada em agosto/2016. Complementarmente, foram obtidas amostras de água na superfície (S), meio (M) e fundo (F), de forma a caracterizar quimicamente o perfil hídrico dos lagos. As coordenadas geográficas de cada ponto amostral (tabela 1), foram obtidas com um GPS da marca Garmin, modelo GPSMAP 62sc.

**Tabela 1: Dados detalhados das campanhas de campo.**

Local	Coordenadas Geográficas	Dados da Coleta
Cava Menor	13°58'16,65"S/49°10'34,33"O	29/08/2016 (08:48 h)
Cava Maior	13°58'28,37"S/49°10'45,17"O	29/08/2016 (09:51 h)
Lago Azul	13°58'51,01"S/49°16'27,24"O	30/08/2016 (09:12 h)

As coletas foram realizadas com o auxílio de um bote inflável da marca Intex, modelo Seahawk 3, e de uma Garrafa de Van Dorn Horizontal de PVC (2 L), da Alfakit, ligada a um cabo de 4 mm de diâmetro e 60 m de comprimento, presa a um disparador metálico. Por sua vez, os sedimentos foram coletados com o auxílio de uma Draga de Van Venn de aço (2 L), da Solo Stocks, também ligada a um cabo de 60 m.

Todas as amostras coletadas foram resfriadas a 4°C. As alíquotas hídricas utilizadas para a análise de metais foram fixadas com 1,5 mL de ácido nítrico concentrado de alta pureza (VETEC®) no momento da coleta. Os frascos para armazenamento eram de polietileno (100 mL) e foram submetidos a descontaminação prévia por contato com ácido nítrico 10% (VETEC®) por 48 horas, seguida de tríplice lavagem com água purificada por sistema Milli-Q® (18,2 MΩ.cm<sup>-1</sup> de resistividade).

No caso da análise de metais, os frascos para armazenamento das amostras eram de polietileno (1 L) e também foram higienizados da mesma forma que os de água. Uma vez no laboratório, as alíquotas foram secadas durante 12 horas em uma estufa Modelo TE-394/5, da marca TECNAL, a 65 °C. Na sequência, cerca de 10 cm<sup>3</sup> de cada amostra foram masecrados e peneirados em uma Peneira de Análise Granulométrica de 100 mesh (ou 150 µm) de abertura, marca A Bronzinox, procedimento que garante partículas de menor dimensão, refletindo em maior eficiência do processo de digestão. Aproximadamente 0,5 g de cada amostra foi pesada em tubo próprio para digestão por microondas em uma balança da marca Adventurer, modelo AR 2140. Em cada tubo, foram adicionados aproximadamente 9 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e 3 mL de ácido clorídrico (HCl), ambos ultrapuros.

A digestão ácida dos sedimentos foi feita em sistema fechado, com o auxílio de um microondas da Mars Xpress, Modelo Cem, de forma a evitar a perda de analitos (HORTELLANI et al., 2008). Após digeridas as amostras, as alíquotas foram filtradas diretamente em balões volumétricos de 50 mL devidamente identificados, mediante a utilização de papel filtro da J Prolab, JP40, faixa branca, 9 cm de diâmetro, com poros de 25 µm. Completou-se o volume com água ultrapura, homogeneizando a solução por agitação. Na sequência, as alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio e levadas a um Espectrômetro Óptico de Emissão Atômica por Plasma (ICP-OES) Perkin Elmer Optima 8300, também utilizado nas análises de metais nas amostras de água. As leituras foram feitas em triplicata.

O ICP-OES quantifica elementos químicos por espectrometria de emissão atômica ótica por plasma de Argônio indutivamente acoplado. Essa é uma técnica que consiste na leitura de emissões de linhas espectrais para a determinação simultânea de diversos elementos químicos metálicos e não-metálicos, obtidas após a emissão atômica provocada por uma tocha de plasma, formada por gás Argônio com pureza mínima de 99,99%, altamente ionizado, contendo igual número de elétrons e íons positivos. Sua temperatura atinge entre 6000 e 10000 °K. O software utilizado no equipamento é o WinLab 32.

Os padrões utilizados nas análises de metais foram das seguintes marcas: VHG Labs, Fluka Analytical, Plasma Cal e Inorganic Ventures. Ao todo, foram analisados 24 elementos químicos, a saber: alumínio, antimônio, arsênio, bário, boro, cádmio, cálcio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, ferro, fósforo, níquel, magnésio, manganês, mercúrio, molibdênio, potássio, prata, selênio, sódio, vanádio e zinco. As análises foram feitas em triplicata.

Os ensaios ecotoxicológicos foram desenvolvidos com amostras de sedimentos das cavas, preservadas conforme as diretrizes estabelecidas pela ABNT (2007a). Foram empregados peixes dulcícolas da espécie *Danio rerio*, adquiridos na fase adulta junto a criadouros profissionais locais. Esse organismo-teste foi escolhido por (i) apresentar adequada sensibilidade a substâncias químicas; (ii) ser muito utilizado em ensaios ecotoxicológicos em âmbito nacional e internacional; (iii) ser facilmente obtido no comércio; (iv) encontrar-se amplamente discutido em bibliografias científicas e (v) poder ser manejado com facilidade em ambientes laboratoriais, o que torna os experimentos rápidos, menos complexos e financeiramente pouco dispendiosos (PESSOA et al., 2011). Nacionalmente, o uso do *Danio rerio* em bioensaios é normatizado pela ABNT (2007b).

Ao serem adquiridos, os peixes foram acondicionados em aquários de 80 litros dispostos em sala exclusiva e submetidos a intervalos de fotoperíodo de 12 horas. Cada aquário possuía aerador, filtro, termostato e tampa. A alimentação foi feita com ração adequada fornecida diariamente. A princípio, os peixes permaneceram em quarentena. A qualidade da água de cada aquário foi monitorada semanalmente mediante a avaliação dos seguintes parâmetros básicos: dureza, pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura. Após esse período e durante sete dias antes do início dos testes, os organismos foram colocados em água de diluição enriquecida com alguns elementos químicos para efeito de reposição nutricional (ABNT, 2007b). Parâmetros físico-químicos básicos de qualidade da água de diluição utilizada foram mensurados para os dois lotes de peixes

empregados nos ensaios ecotoxicológicos. Os valores obtidos demonstraram estar dentro do preconizado pela norma.

Durante 24 horas antes da realização dos bioensaios propriamente ditos, as amostras dos sedimentos foram agitadas com o auxílio de agitador mecânico da marca Ika, série RW 16, a 500 rpm. Após descanso de 2 horas, a fase sobrenadante foi recolhida e utilizada no teste ecotoxicológico.

O método escolhido para os ensaios ecotoxicológicos foi o estático, recomendado para substâncias-teste que apresentam características como estabilidade no meio aquoso e não interferência nas concentrações de oxigênio dissolvido (BERTOLETI, 2009). Foram realizados testes ecotoxicológicos agudos de 48 horas de duração divididos em duas etapas: Ensaio Preliminar e Definitivo. O primeiro tem a finalidade de estabelecer um intervalo de soluções-teste a ser utilizado no Ensaio Definitivo e consiste na transferência de três peixes para cada aquário de 1 L contendo a substância-teste diluída nas seguintes concentrações (volume/volume): 3,1%; 6,2%; 12,5%; 25,0%; 50,0% e 100,0%, além do grupo controle negativo. Por sua vez, o Ensaio Definitivo consiste na introdução de dez peixes em aquários de 3 L preenchidos com a substância-teste diluída nas concentrações estabelecidas no Ensaio Preliminar.

Em todos os ensaios ecotoxicológicos realizados, a qualidade das águas dos aquários foi acompanhada no início e na 24<sup>a</sup> e 48<sup>a</sup> hora, mediante a análise de pH, dureza, oxigênio dissolvido, condutividade, temperatura, turbidez e sólidos totais dissolvidos, sendo que todos atenderam às diretrizes estabelecidas pela citada norma. O fotoperíodo foi de 12 h e os peixes não foram alimentados durante os testes.

Para a avaliação dos possíveis danos genéticos sofridos pelos peixes, foi realizado o Ensaio Cometa com os organismos-teste sobreviventes advindos dos bioensaios, teste genético capaz de detectar danos ao DNA em células individualizadas. Consiste em uma técnica de execução rápida, com boa reprodutibilidade, precisa e bastante sensível (OLIVE et al., 1990).

O Ensaio Cometa foi desenvolvido no presente estudo conforme metodologia descrita por Singh et al. (1988), com modificações. No laboratório, após o término dos Testes Ecotoxicológicos Definitivos, cinco peixes sobreviventes expostos a cada concentração, incluindo a duplicata, foram eutanasiados. O sangue foi coletado por meio da secção transversal na base da cauda, sendo o organismo inserido em um tubo ependorff contendo cerca de 1 ml de soro fetal bovino. Após aproximadamente 15 minutos de imersão, os peixes foram retirados e os tubos contendo as suspensões celulares foram centrifugados a 1000 rpm por 5 minutos. Na sequência, foram retirados 15 µL da suspensão celular e embebidos em 120 µL de agarose Low Melting Point (0,5%), mantida em Banho-Maria a 37°C. A mistura foi colocada em lâminas previamente preparadas com uma pré-cobertura de agarose Normal Melting (1,5%) e coberta com uma lamínula. Em seguida, foram colocadas na geladeira a 6°C durante 10 minutos para a solidificação do material.

Após esse tempo, as lamínulas foram removidas e as lâminas foram então imersas em solução de lise (1 mL Triton X-100, 10 mL de DMSO e 89 mL de solução de lise estoque, pH 10,0) por 24 horas, a uma temperatura de 6°C, e mantidas protegidas da luz. Na sequência, foram retiradas da lise e colocadas em uma cuba horizontal de eletroforese, imersas em solução alcalina (NaOH 300 mmol/L + EDTA 1 mmol.L-1, pH > 13) por 30 minutos. A corrida eletroforética foi realizada por 25 minutos, a 25 volts e com uma corrente ajustada para 300 mA. Uma vez removidas da cuba, a neutralização das lâminas foi feita com uma Solução Tampão (Tris-HCl 0,4 mol.L-1, pH 7,5) por três vezes, em intervalos de 5 minutos. Após essa neutralização, foram lavadas duas vezes com água destilada, colocadas para secar em temperatura ambiente e então fixadas em etanol absoluto por 10 minutos.

Para a análise, as lâminas foram coradas com adição de 20 µL de solução de brometo de etídio (concentração final de 0,2 mg.mL-1), sendo esta recoberta por uma lamínula, de forma a evitar o contato direto com o material. Para cada indivíduo, foram contabilizados 100 nucleoides. A visualização foi feita por um sistema de microscopia de fluorescência Axioplan-Imaging®, usando o software Isis, com um filtro de excitação de 510-560 nm e um filtro barreira de 590 nm, com aumento de 200 x. Para avaliação dos danos ao DNA, foi utilizado o plug-in OpenComet para a plataforma de processamento de imagem popular ImageJ. Este último é capaz de exibir, processar e analisar imagens e destina-se principalmente ao uso em microscopia eletrônica (GYORI et al., 2014).

## RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados de metais nas águas e sedimentos podem ser visualizados nas tabelas 2 a 4, a seguir.

**Tabela 2: Resultados das concentrações de metais nas águas e sedimentos da Cava Menor.**

	Concentração de Elementos Químicos – Cava Menor				Valores Máximos Permitidos (CONAMA)		
	Água (mg.L <sup>-1</sup> )			Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	Água (mg.L <sup>-1</sup> )	Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	
	Superfície	Meio	Fundo		357/05 <sup>1</sup>	420/09 <sup>2</sup>	454/12
Alumínio	0,34±0,00	0,35±0,00	0,95±0,02	13933,52±1006,18	0,1	-	-
Antimônio	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,005	5	-
Arsênio	0,02±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	5,20±0,72	0,01	35	5,9
Bário	0,03±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	233,06±14,16	0,7	300	-
Boro	<LQ	<LQ	<LQ	3,92±0,33	0,5	-	-
Cádmio	<LQ	0,001±0,000	0,006±0,000	6,62±0,12	0,001	3	0,6
Cálcio	82,02±0,72	82,65±0,67	87,48±0,72	5034,71±575,06	-	-	-
Chumbo	<LQ	<LQ	<LQ	7,11±0,54	0,01	180	35
Cobalto	<LQ	<LQ	<LQ	15,61±0,33	0,05	35	-
Cobre	0,04±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	136,10±0,55	0,009	200	35,7
Crômio	<LQ	<LQ	<LQ	65,32±0,95	0,05	150	37,3
Ferro	<LQ	<LQ	0,64±0,02	21550,45±302,71	0,3	-	-
Fósforo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,03	-	-
Magnésio	37,30±0,50	37,30±0,30	39,35±0,40	12069,70±134,60	-	-	-
Manganês	0,15±0,00	0,16±0,00	0,33±0,00	452,90±3,25	0,1	-	-
Mercurio	<LQ	<LQ	<LQ	0,19±0,09	0,0002	12	0,17
Molibdênio	<LQ	<LQ	<LQ	2,34±1,22	-	50	-
Níquel	<LQ	<LQ	<LQ	46,08±2,99	0,025	70	18
Potássio	10,24±0,12	10,20±0,08	9,97±0,08	4817,49±7,16	-	-	-
Prata	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,01	25	-
Selênio	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,01	-	-
Sódio	13,01±0,52	12,67±0,10	12,67±0,06	289,55±13,84	-	-	-
Vanádio	<LQ	<LQ	<LQ	45,72±2,01	0,1	-	-
Zinco	<LQ	<LQ	<LQ	70,42±0,74	0,18	450	123

Legenda: Valores em **vermelho** estão acima dos limites permitidos / LQ: Limite de Quantificação / <sup>1</sup> - Valores para corpos hídricos de Classe 2 / <sup>2</sup> - Valores de Investigação (VI) estabelecidos para uso agrícola do solo / Os valores em mg.kg<sup>-1</sup> são em peso seco.

**Tabela 3: Resultados das concentrações de metais nas águas e sedimentos da Cava Maior.**

	Concentração de Elementos Químicos – Cava Maior				Valores Máximos Permitidos (CONAMA)		
	Água (mg.L <sup>-1</sup> )			Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	Água (mg.L <sup>-1</sup> )	Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	
	Superfície	Meio	Fundo		357/05 <sup>1</sup>	420/09 <sup>2</sup>	454/12
Alumínio	0,33±0,00	0,33±0,00	0,49±0,08	16000,19±948,06	0,1	-	-
Antimônio	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,005	5	-
Arsênio	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,46±0,23	0,01	35	5,9
Bário	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	663,09±43,46	0,7	300	-
Boro	<LQ	<LQ	<LQ	4,73±0,21	0,5	-	-
Cádmio	<LQ	<LQ	0,001±0,000	11,23±0,19	0,001	3	0,6
Cálcio	29,50±0,80	29,90±0,32	29,41±0,14	3656,64±153,31	-	-	-
Chumbo	<LQ	<LQ	<LQ	15,18±0,57	0,01	180	35
Cobalto	<LQ	<LQ	<LQ	99,84±1,61	0,05	35	-
Cobre	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	10,87±0,10	0,009	200	35,7
Crômio	<LQ	<LQ	<LQ	29,60±0,32	0,05	150	37,3
Ferro	<LQ	<LQ	<LQ	37946,33±390,98	0,3	-	-
Fósforo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,03	-	-
Magnésio	13,65±0,51	13,48±0,14	13,02±0,07	9314,83±77,08	-	-	-
Manganês	0,16±0,00	0,16±0,00	0,33±0,00	509,53±3,57	0,1	-	-
Mercurio	<LQ	<LQ	<LQ	0,160±0,01	0,0002	12	0,17
Molibdênio	<LQ	<LQ	0,002±0,000	3,02±0,31	-	50	-
Níquel	<LQ	<LQ	<LQ	19,84±0,37	0,025	70	18
Potássio	6,90±0,28	6,79±0,03	6,79±0,03	5992,26±8,15	-	-	-
Prata	<LQ	<LQ	<LQ	21,65±0,02	0,01	25	-
Selênio	<LQ	<LQ	<LQ	2,33±1,53	0,01	-	-
Sódio	26,66±0,20	26,75±0,43	27,36±0,31	214,96±14,30	-	-	-
Vanádio	<LQ	<LQ	<LQ	70,14±0,53	0,1	-	-
Zinco	<LQ	<LQ	<LQ	98,56±1,79	0,18	450	123

Legenda: Valores em **vermelho** estão acima dos limites permitidos / LQ: Limite de Quantificação / <sup>1</sup> - Valores para corpos hídricos de Classe 2 / <sup>2</sup> - Valores de Investigação (VI) estabelecidos para uso agrícola do solo / Os valores em mg.kg<sup>-1</sup> são em peso seco.

**Tabela 4: Resultados das concentrações de metais nas águas e sedimentos do Lago Azul.**

Concentração de Elementos Químicos – Lago Azul					Valores Máximos Permitidos (CONAMA)		
	Água (mg.L <sup>-1</sup> )			Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	Água (mg.L <sup>-1</sup> )	Sedimento (mg.Kg <sup>-1</sup> )	
	Superfície	Meio	Fundo		357/05 <sup>1</sup>	420/09 <sup>2</sup>	454/12
Alumínio	<b>1,14±0,03</b>	<b>1,14±0,00</b>	<b>20,58±0,21</b>	31147,88±510,03	<b>0,1</b>	-	-
Antimônio	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<b>0,005</b>	5	-
Arsênio	0,009±0,002	0,01±0,00	<b>0,02±0,00</b>	3,36±1,50	<b>0,01</b>	35	<b>5,9</b>
Bário	0,04±0,00	0,04±0,00	0,03±0,00	<b>2011,52±38,81</b>	<b>0,7</b>	300	-
Boro	<LQ	<LQ	<LQ	5,14±0,41	<b>0,5</b>	-	-
Cádmio	<b>0,007±0,000</b>	<b>0,007±0,000</b>	<b>0,031±0,000</b>	<b>34,78±0,06</b>	<b>0,001</b>	3	<b>0,6</b>
Cálcio	43,98±1,84	44,59±0,31	96,36±1,08	1097,05±17,91	-	-	-
Chumbo	<LQ	<LQ	<b>0,04±0,00</b>	<b>75,76±1,31</b>	<b>0,01</b>	180	35
Cobalto	0,04±0,00	0,04±0,00	<b>0,29±0,00</b>	6,35±0,07	<b>0,05</b>	35	-
Cobre	<b>0,16±0,00</b>	<b>0,16±0,00</b>	<b>0,54±0,00</b>	<b>526,51±7,39</b>	<b>0,009</b>	200	<b>35,7</b>
Crômio	<LQ	<LQ	<b>0,06±0,00</b>	<b>978,08±7,09</b>	<b>0,05</b>	150	<b>37,3</b>
Ferro	<LQ	<LQ	<b>4,39±0,05</b>	102618,60±406,91	<b>0,3</b>	-	-
Fósforo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<b>0,03</b>	-	-
Magnésio	40,17±1,76	40,50±0,24	130,86±1,33	15746,37±147,52	-	-	-
Manganês	<b>1,31±0,01</b>	<b>1,32±0,01</b>	<b>3,85±0,01</b>	205,69±1,16	<b>0,1</b>	-	-
Mercurio	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<b>0,0002</b>	12	<b>0,17</b>
Molibdênio	<LQ	<LQ	<LQ	18,65±1,14	-	50	-
Níquel	<b>0,26±0,00</b>	<b>0,26±0,00</b>	<b>1,33±0,00</b>	<b>125,01±1,30</b>	<b>0,025</b>	70	18
Potássio	8,69±0,32	8,71±0,03	14,07±0,04	13473,13±129,35	-	-	-
Prata	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<b>0,01</b>	25	-
Selênio	<LQ	<LQ	<LQ	3,21±2,02	<b>0,01</b>	-	-
Sódio	7,97±0,33	7,98±0,04	20,03±0,20	707,56±0,84	-	-	-
Vanádio	<LQ	<LQ	0,02±0,00	142,04±1,20	<b>0,1</b>	-	-
Zinco	<b>0,85±0,01</b>	<b>0,87±0,01</b>	<b>3,51±0,01</b>	<b>291,41±1,45</b>	<b>0,18</b>	450	123

Legenda: Valores em **vermelho** estão acima dos limites permitidos / LQ: Limite de Quantificação / <sup>1</sup> - Valores para corpos hídricos de Classe 2 / <sup>2</sup> - Valores de Investigação (VI) estabelecidos para uso agrícola do solo / Os valores em mg.kg<sup>-1</sup> são em peso seco.

Em termos de qualidade hídrica, os três ambientes apresentaram comportamento semelhante: as concentrações de quase todos os metais quantificados se mostraram predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo, resultado comum para cavas de mineração (PELLICORI et al., 2005).

As águas das Cavas Menor e Maior estão qualitativamente comprometidas, pois diversos analitos acusaram concentrações acima dos limites máximos estabelecidos: alumínio, arsênio, cádmio, cobre, ferro e manganês na primeira e alumínio, cobre e manganês nesta última. Nesse caso, era esperado que os elementos em discordância com a legislação fossem praticamente os mesmos para ambos os lagos, pois se localizam praticamente no mesmo ambiente geológico, vez que distam apenas cerca de 250 metros entre si. Assim, como a qualidade hídrica normalmente é reflexo da composição química do solo com o qual a água tem contato (SHEVENELL, 2000), conclui-se que ambas as cavas estão em processo de condicionamento geológico semelhante.

Adicionalmente, está ocorrendo a diminuição temporal da qualidade hídrica das Cavas Maior e Menor, pois em 2014 não foram observadas concentrações significativas de elementos potencialmente tóxicos em suas águas, ao contrário dos dados acima apresentados. Certamente, esses resultados são reflexo dos condicionantes geológicos locais, fontes potenciais permanentes de contaminantes (SÁNCHEZ-ESPAÑA et al., 2008), os quais demonstram estar se tornando temporalmente ativos na área das cavas. Nesse sentido, embora algumas pesquisas tenham comprovado a boa qualidade hídrica de cavas ao redor do mundo, as quais poderiam favorecer inclusive a criação de peixes nesses ambientes (DENIMAL et al., 2005; DELGADO-MARTIN et al., 2013 e GAMMONS et al., 2003), Shevenell (2000) esclarece que pode ocorrer a diminuição temporal da qualidade da água de lagos de mineração e que esse deve ser um fator observado antes de se concluir sobre possíveis usos desses ambientes, como no caso das Cavas Maior e Menor. Outra explicação para a elevação temporal das concentrações de metais nas águas das Cavas Maior e Menor é o processo de evapoconcentração.

No caso específico do Lago Azul, suas águas apresentaram elevadas concentrações de alumínio, arsênio, cádmio, chumbo, cobalto, cobre, crômio, ferro, manganês, níquel e zinco. Ademais, considerando a acidez das suas águas, a presença de grandes quantidades de rochas e estereis expostas às intempéries em suas imediações diretas e os prováveis processos de evapoconcentração, verifica-se que o volume hídrico acumulado em seu

interior continua sob intensa mineralização e controle geológico, confirmando a evidência visual da DAM naquela área.

Resultados muito semelhantes foram obtidos em estudos desenvolvidos por diversos pesquisadores, como Davis e Ashenberg (1989), Gammons et al. (2003), Howell e Parshley (2005), Lottermoser et al. (2005), Pellicori et al. (2005), Triantafyllidis e Skarpelis (2006), Antunes et al. (2007), Sanchez-España et al. (2008), Migaszewski et al. (2008), Romero et al. (2010), Czop et al. (2011), Hrdinka et al. (2013) e Yucel e Baba (2013), que constataram altas concentrações de analitos potencialmente tóxicos nas águas das cavas que pesquisaram.

No que se refere aos resultados dos sedimentos, verificou-se que o controle geológico dos três ambientes estudados exerce influência intensa em sua qualidade química, pois as concentrações dos analitos avaliados se mostraram bem mais elevadas no fundo das cavas. Nesse sentido, os sedimentos da Cava Menor apresentaram elevados teores de cádmio, cobre, cromo, mercúrio e níquel, e a Cava Maior de bário, cádmio, cobalto e níquel. O Lago Azul, por sua vez, apresenta maior grau de comprometimento ambiental que os outros dois, pois foram detectados bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco em seus sedimentos diversas vezes acima dos limites legais vigentes.

De acordo com Jesus et al. (2004) e Delgado-Martin et al. (2013), sedimentos normalmente são críticos em termos de concentrações de elementos químicos potencialmente tóxicos, o que ocorre principalmente devido à sua elevada capacidade de sorção associada à acumulação das partículas. Por esse motivo, são entendidos como poluidores em potencial, pois armazenam contaminantes em elevadas quantidades que, uma vez ressuspensos, podem comprometer a qualidade da água (LACMA et al., 2007).

Alguns estudos sobre cavas tiveram abordagens geoquímicas que incluíram análises de sedimentos, como os desenvolvidos por Levy et al. (1997), Roussel et al. (2000), Howell e Parshley (2005), Castendyk et al. (2005), Herzprung et al. (2005), Lottermoser et al. (2005), Romero et al. (2007), Sánchez-España et al. (2008), Czop et al. (2011), Edberg et al. (2012), Koschorreck e Wendt-Pottohoff (2012), Poerschmann et al. (2012), Cánovas et al. (2015), Mollema et al. (2015) e Antunes et al. (2016). Nesse sentido, Lottermoser et al. (2005), por exemplo, pesquisaram a transferência de contaminantes a partir de depósitos de resíduos de rocha e solo mineralizado em sedimentos e outros compartimentos ambientais de uma mineração de urânio australiana. Constataram a ocorrência de processos de desgaste acelerado de minerais na área como um todo, especialmente em rochas e paredes da mina a céu aberto, o que favoreceu a mobilidade de metais e alterou negativamente a qualidade das águas da cava. Nos sedimentos, e assim como comprovado nesta pesquisa, os autores também observaram concentrações elevadas de analitos como arsênio, cobre, níquel, chumbo e zinco.

Mollema et al. (2015) avaliaram o potencial de uma antiga cava holandesa para fins de abastecimento público. Para tanto, desenvolveram uma pesquisa de caracterização da qualidade das suas águas e sedimentos. Foi constatado que as concentrações médias de metais potencialmente tóxicos nas partículas de fundo aumentaram consideravelmente entre os anos 2000 e 2010, principalmente dos analitos cádmio, níquel e zinco, assim como também observado nas Cavas Maior e Menor e, principalmente, no Lago Azul. Triantafyllidis e Skarpelis (2006) analisaram diversas amostras da Mina Kirki, Grécia, incluindo sedimentos. Assim como observado para o Lago Azul, foi constatada acentuada acidez e altas concentrações de elementos tóxicos nas águas e no fundo do lago, tais como ferro, chumbo, zinco, arsênio e cobre.

No geral, os autores que pesquisaram a qualidade química de sedimentos de cavas de mineração destacam a elevada influência das águas pluviais e do ar nesse processo, elementos intemperizadores que, ao entrarem em contato com minerais sulfetados presentes no solo, desencadeiam a drenagem ácida de mina. Esse entendimento pode ser aplicado para as Cavas Maior e Menor e para o Lago Azul, pois se constituem em passivos ambientais que não foram recuperados a contento e que, por consequência, apresentam afloramentos geológicos e pilhas de rejeitos diretamente expostas às intempéries, em especial este último.

Nos ensaios ecotoxicológicos realizados para sedimentos não foi observada a mortalidade de nenhum organismo-teste. Entretanto, as amostras do Lago Azul referentes às concentrações de 25,0%, e mais explicitamente de 50,0% e 100,0%, demonstraram efeitos comportamentais significativos sobre os indivíduos expostos, que apresentaram momentos de agitação intensa seguidos de breve letargia, comportamento que se

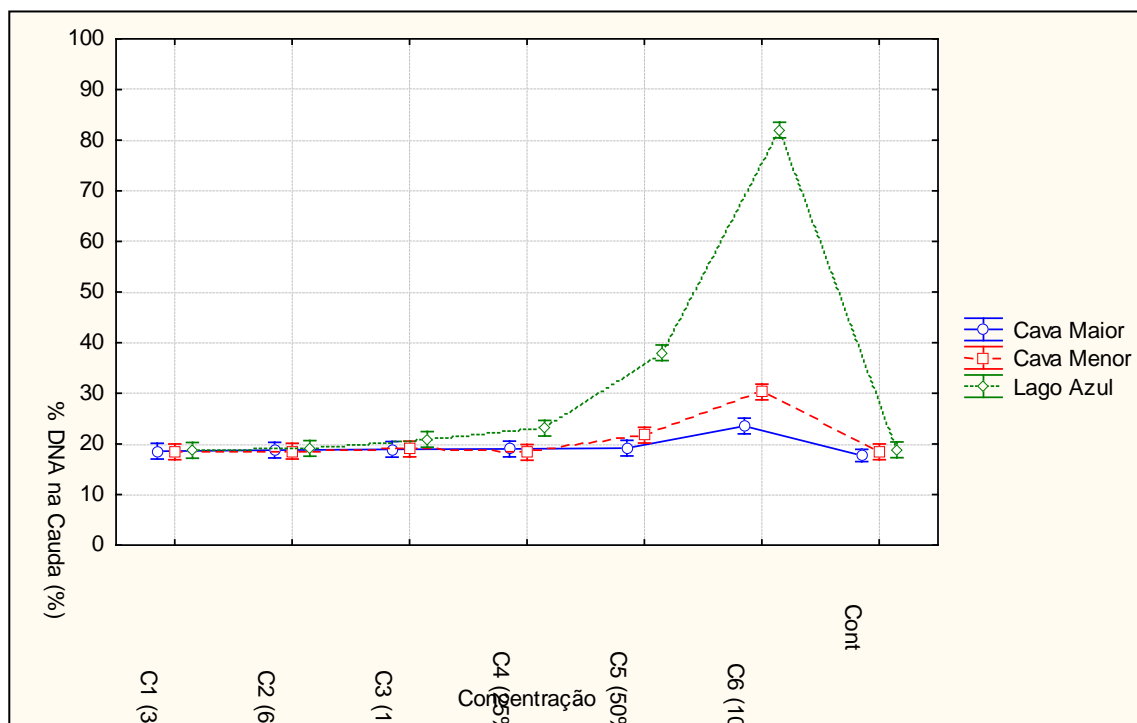


justifica pela baixa qualidade química dos sedimentos dessa cava, constituídos de elevadas concentrações de elementos reconhecidamente tóxicos.

Trabalhos envolvendo ensaios ecotoxicológicos de sedimentos de cavas ainda são raros. Na pesquisa desenvolvida por Antunes et al. (2007), por exemplo, resultados de baixa toxicidade de amostras de fundo de cava também foram observados. Os referidos autores avaliaram a degradação ambiental de uma mina portuguesa de urânio por intermédio da toxicidade aguda sazonal da água e de sedimentos de cava. O potencial sinérgico dessas substâncias foi mensurado com o uso de alga (*P. subcapitata*), microcrustáceos (*D. magna* e *D. longispina*) e díptero (*C. riparius*). Em relação aos sedimentos, não foi observada a toxicidade aguda para as espécies testadas, exceto para *D. longispina*. Por outro lado, Aluma et al. (2011) utilizaram ovos do microcrustáceo *Daphnia magna* na análise da toxicidade de sedimentos de uma área de mina de Ohio (EUA). Para tanto, encubaram-nos em recipientes contendo água na presença de substratos com e sem contaminantes metálicos advindos da DAM, tendo observado 0% de eclosões nas concentrações mais altas dos analitos de interesse ambiental.

Tendo em vista que os sedimentos pesquisados ao longo deste estudo demonstraram ser o compartimento ambiental mais comprometido em termos de concentrações de substâncias potencialmente tóxicas, bem como o fato de que estudos envolvendo abordagens mais profundas do potencial de toxicidade ambiental de sedimentos de cavas ainda são escassos – e, no caso da associação de aspectos químicos, ecotoxicológicos e genotoxicológicos, desconhecidos –, foi necessário o desenvolvimento do Ensaio Cometa.

A figura 2 ilustra os resultados de Porcentagem de DNA na Cauda (COLLINS et al., 2003 e KUMARAVEL e JHA, 2007) obtidos.



**Figura 2: Resultados do parâmetro Porcentagem de DNA na Cauda para as amostras de sedimentos das Cavas Maior e Menor e do Lago Azul.**

Comparativamente, os sedimentos do Lago Azul apresentam maior potencial genotoxicológico que os dos outros dois ambientes estudados, tendo alcançado 82% de danos ao DNA na concentração de 100% (C6). Na sequência, aparece a Cava Menor, com 30,27% (C6) de Porcentagem de DNA na Cauda, e a Maior, com 23,53% (C6). Outra constatação é que comparado aos seus respectivos grupos controle negativos, os peixes expostos aos sedimentos do Lago Azul começaram a apresentar danos ao DNA estatisticamente significativos a partir da concentração de 12,5% (C3), enquanto nas Cavas Menor e Maior as interferências a nível genético só foram percebidas a partir de 50% (C5) na primeira e de 100% (C6) na última.

Dallegrave et al. (2003) esclarecem que estudos de análise genotoxicológica avaliam os efeitos de substâncias específicas sobre organismos-teste que, quando expostos a contaminantes, podem apresentar danos genéticos advindos principalmente de quebras em fitas simples ou duplas do DNA. Se não reparados, esses danos podem levar a mutações do indivíduo exposto ou provocar futuras alterações até mesmo em seus descendentes, afetando, assim, uma comunidade ecológica exposta.

Segundo Collins et al. (2008), quebras da fita de DNA podem ser provocadas por um agente genotóxico e, quando ocorrem, seus fragmentos de diversos tamanhos migram após uma corrida eletroforética, formando um cometa visível no Ensaio Cometa. Danos ao DNA podem ser detectados mesmo em exposições curtas e são um sintoma de intoxicação aguda promovida pela associação dos contaminantes aos organismos expostos, conforme discutido por Factori et al. (2014).

Considerando esse contexto, verifica-se que os sedimentos das três cavas apresentam potencial genotóxico, resultados que corroboram com os dados químicos obtidos. Nesse sentido, segundo Sisino e Oliveira-Filho (2013), o zinco, por exemplo, normalmente atua de forma sinérgica com outros elementos, como o cádmio, e potencializa os efeitos degradantes sobre os organismos expostos. Este último, por sua vez, pode afetar de forma aguda os rins, fígado, pâncreas, gônadas e pulmões de peixes e desencadear problemas associados a alterações no metabolismo do cálcio, danos hepáticos e efeitos negativos em seus sistemas cardiovasculares.

Tendo por base os trabalhos desenvolvidos por Espíndola et al. (2000), Moeri et al. (2007) e Zagatto e Bertoletti (2008), verifica-se que diversos dos metais detectados nas cavas contempladas nesta pesquisa são cumulativos nos organismos e podem provocar alterações orgânicas nos seus sistemas nervoso, respiratório, digestivo, intestinal e cardiovascular, interferências na medula óssea e rins, destruição de mucosas e órgãos internos, além do surgimento de diversos tipos de câncer. Ferreira et al. (2008), por exemplo, concluíram em seu estudo que o alumínio possui potencial toxicológico elevado. Por sua vez, segundo CETESB (2012), o bário, mesmo em pequenas quantidades, pode provocar diarreia, dificuldade respiratória, alteração da pressão sanguínea e do ritmo cardíaco, paralisia e debilidade muscular nos seres vivos.

No caso do arsênio, elemento reconhecidamente tóxico, Rodrigues e Malafaia (2008) informam que a mineração é uma das principais fontes desse contaminante e que seus efeitos nos organismos incluem o desenvolvimento de muitos tipos de câncer, doenças intestinais, vasculares, neuropatias periféricas e diabetes. Complementarmente, Çolak et al. (2003), ao mensurarem o passivo ambiental formado na área de uma antiga mina a céu aberto, identificaram um grave cenário local de contaminação ambiental por arsênio que podia ser associado diretamente aos inúmeros problemas orgânicos manifestados por pessoas que residiam nas imediações do empreendimento.

Em relação ao cromo, Lacma et al. (2007) demonstraram que esse analito presente no sedimento marinho demonstrou notável efeito letal sobre exemplares de *Donax obesulus*. Efeitos semelhantes são associados aos demais elementos químicos identificados na presente pesquisa, como explicitam Ansari et al. (2004), Ahmad et al. (2005), Chaalal et al. (2005); Duruibe et al. (2007), Arunakumara e Xuecheng (2008) e Vale et al. (2011).

Por fim, com relação à possibilidade de reaproveitamento das águas das cavas avaliadas, para todas é válida a observação feita recentemente por Antunes et al. (2016), que avaliaram a grau de comprometimento ambiental de um antigo complexo mineral português com a finalidade de verificar se as medidas de remediação adotadas no passado foram eficientes. O trabalho concluiu que programas de recuperação ambiental de áreas mineradas devem ser específicos e precisam passar por acompanhamento espaço-temporal para comprovarem sua eficácia. Assim, vale observar que no contexto das três cavas estudadas, a qualidade ambiental tem piorado ao longo do tempo, o que indica que medidas de remediação devem ser imediatamente executadas visando a melhoria da qualidade ambiental dessas unidades.

## CONCLUSÕES

As águas e os sedimentos das cavas pesquisadas apresentaram concentrações de vários elementos químicos tóxicos acima dos valores máximos estabelecidos pela legislação, como arsênio, bário, cádmio, chumbo e mercúrio, as quais se mostraram predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo e mais

elevadas nos sedimentos. Assim, as três cavas mostram-se ambientalmente comprometidas, especialmente o Lago Azul, submetido a intenso processo de condicionamento geológico.

Os resultados dos bioensaios não evidenciaram a ecotoxicidade dos sedimentos de nenhuma das cavas, mas apenas alterações comportamentais nos organismos-teste expostos às concentrações de 25,0%, 50,0% e 100,0% das amostras advindas do Lago Azul. Entretanto, do ponto de vista genotóxico, as cavas pesquisadas se apresentam ambientalmente comprometidas, pois o Ensaio Cometa mostrou um aumento gradual no número de células com maior quantidade de danos ao DNA, principalmente para o Lago Azul, resultados que corroboram com a baixa qualidade química dos sedimentos desses ambientes.

Considerando os dados obtidos, é possível afirmar que as cavas avaliadas se configuram em passivos ambientais que demandam a devida atenção por parte dos gestores públicos no tocante aos riscos ambientais que apresentam, os quais estão associados principalmente aos usos de suas águas, que não são indicados dadas as suas condições ambientais atuais. Por isso, é necessária a adoção de medidas imediatas de recuperação ambiental, considerando que o Lago Azul, principalmente, não possui controle de acesso e é constantemente utilizado pela população em atividades diversas, especialmente de lazer.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMAD, I.; ZAFAR, S.; AHAMAD, F. Heavy metal biosorption potencial os *Aspergillus* and *Rizopus* sp. isolated from wastewater treated soil. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 9: 123-126. 2005.
2. ALUMA, E.; HASSETT, R.P.; JOHNSON, K. Short communication: a 24 hour ecotoxicity test for acid mine drainage using hatching success in *Daphnia magna*. *J. Appl. Sci. Environ. Manage*, 15: 231-234. 2011.
3. ANSARI, T.M.; MARR, I.L.; TARIQ, N. Heavy metals in marine pollution perspective: a mini review. *Journal of Applied Sciences*, 4: 1-20. 2004.
4. ANTUNES, I.M.H.R.; GOMES, M.E.P.; NEIVA, A.M.R.; CARVALHO, P.C.S.; SANTOS, A.C.T. Potential risk assessment in stream sediments, soils and waters after remediation in an abandoned W4Sn mine (NE Portugal). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133:135-145. 2016.
5. ANTUNES, S.C.; DE FIGUEIREDO, D.R.; MARQUES, S.M.; CASTRO, B.B.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, F. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. *Science of the Total Environment*, 374: 252-259. 2007.
6. ANTUNES, S.C.; DE FIGUEIREDO, D.R.; MARQUES, S.M.; CASTRO, B.B.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, F. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. *Science of the Total Environment*, 374: 252-259. 2007.
7. ARUNAKUMARA, K.K.I.U.; XUECHENG, Z. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Journal of Ocean University of China*, 7: 60-64. 2008.
8. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNTa. Norma brasileira de regulamentação nº 15.469: ecotoxicologia aquática – preservação e preparo de amostras. São Paulo, SP: ABNT. 2007.
9. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNTb. Norma brasileira de regulamentação nº 15.499: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica de curta duração – método de ensaio com peixes. São Paulo, SP: ABNT. 2007.
10. AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos, SP: Rima. 2004.
11. BARBOSA, J.S.; CABRAL T.M.; FERREIRA, D.N.; AGNEZ-LIMA, L.F.; BATISTUZZO DE MEDEIROS, S.R. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 320-325. 2010.
12. BERTOLETTI, E. Determinação da toxicidade crônica para *Danio rerio*. *Jornal da Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia*, 4: 1-7. 2009.
13. BOWELL, R.J.; PARSHLEY, J.V. Control of pit-lake water chemistry by secondary minerals, Summer Camp pit, Getchell mine, Nevada. *Chemical Geology*, 215: 373-385. 2005.
14. BRANDENBERGER, J.; LOUCHOUARN, P.; HERBERT, B.; TISSOT, P. Geochemical and hydrodynamic controls on arsenic and trace metal cycling in a seasonally stratified US sub-tropical reservoir. *Applied Geochemistry*, 19: 1601-1623. 2004.

15. BÜCHER, A.; CARVALHO, W.; ALVES-GOMES, J.A. Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. *Acta Amazonica*, 36: 357-364. 2006.
16. CALIJURI, M.C.; CUNHA, D.G.F. Engenharia ambiental: conceitos, tecnologia e gestão. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier. 2013.
17. CÁNOVAS, C.R.; PEIFFER, S.; MACÍAS, F.; OLÍAS, M.; NIETO, J.M. Geochemical processes in a highly acidic pit lake of the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Chemical Geology*, 395: 144-153. 2015.
18. CASTENDYK, D.N.; MAUK, J.L.; WEBSTER, J.G. A mineral quantification method for wall rocks at open pit mines, and application to the Martha Au-Ag mine, Waihi, New Zeland. *Applied Geochemistry*, 20: 135-156. 2005.
19. CHAALAL, O.; ZEKRI, A.Y.; ISLAM, R. Uptake of heavy metals by microorganisms: an experimental approach. *Energy Sources*, 27: 87-100. 2005.
20. ÇOLAC, M.; GEMICI, Ü.; TARCAN, G. The effects of colemanite deposits on the arsenic concentrations of soil and groundwater in Igdeköy-Emet, Kütahya, Turkey. *Water, Air, and Soil Pollution*, 149: 127-143. 2003.
21. COLLINS, A.; SMITH, A.; SPEIT, G.; THYBAUD, V.; TICE, R.R. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*, 18: 45-51. 2003.
22. COLLINS, A.R.; OSCOZ, A.A.; BRUNBORG, G. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, 23:143-51. 2008.
23. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade das Águas e dos Sedimentos e Metodologias Analíticas de Amostragem. São Paulo, SP: CETESB. 2009.
24. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. Bário: ficha de informação toxicológica. São Paulo, SP: CETESB. 2012.
25. CZOP, M.; MOTYKA, J.; SRACEK, O.; SZUWARZYNSKI, M. Geochemistry of the hyperalkaline Gorka pit lake (pH>13) in the Chrzanow region, southern Poland. *Water, Air, and Soil Pollution*, 214: 423-434. 2011.
26. DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F.D.; COELHO, R.S.; PEREIRA, J.D.; DALSENTER, P.R.; LANGELOH, A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate Roundup<sup>†</sup> in Wistar rats. *Toxicology Letters*, 142: 45-52. 2003.
27. DAVIS, A.; ASHENBERG, D. The aqueous geochemistry of the Berkeley Pit, Butte, Montana, U.S.A. *Applied Geochemistry*, 4: 23-36. 1989.
28. DELGADO-MARTIN, J.; JUNCOSA-RIVERA, R.; FALCÓN-SUÁREZ, I.; CANAL-VILA, J. Four years of continuous monitoring of the Meirama end-pit lake and its impact in the definition of future uses. *Environ Sci Pollut Res*, 10: 1610-1618. 2013.
29. DENIMAL, S.; BERTRAND, C.; MUDRY, J.; PAQUETTE, Y.; HOCHART, M.; STEINMANN, M. Evolution of the aqueous geochemistry of mine pit lakes – Blanzzy-Montceau-les-Mines coal basin (massif central, France): origin of sulfate contents; effects of stratification on water quality. *Applied Geochemistry*, 20: 825-839. 2005.
30. DERUIBE, J.O.; OGWUEGBU, M.O.C.; EGWURUGWU, J.N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Science*, 2: 112-118. 2007.
31. DUARTE, I.D.; DIAS, M.C.; DAVID, J.A.O.; MATSUMOTO, S.T. A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. *Revista Brasileira de Biociências*, 10: 211-219. 2012.
32. EDBERG, F.; ANDERSON, A.F.; HOLMSTRÖM, S.J.M. Bacterial community composition in the water column of a lake formed by a former uranium open pit mine. *Microb Ecol*, 64: 870-880. 2012.
33. ESPÍNDOLA, E.L.G.; PASCHOAL, C.M.R.B.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA NETO, A.L. Ecotoxicologia, perspectivas para o século XXI. São Carlos, SP: Rima. 2000.
34. ESTEVES, F. A. Fundamentos de limnologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.
35. FACTORI, R.; LELES, S.M.; NOVAKOWSKI, G.C.; ROCHA, C.L.S.C.; THOMAZ, S.M. Toxicity and genotoxicity of water and sediment from streams on dotted duckweed (*Landoltia punctata*). *Braz. J. Biol.*, 74: 769-778. 2014.
36. FERREIRA, P.C.; PIAI, K.A.; TAKAYANAGUI, A.M.M.; SEGURA-MUÑOZ, S.I. Alumínio como fator de risco para a doença de Alzheimer. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 16: 1-8. 2008.
37. FURTADO, A. L. S.; CASPER, P.; ESTEVES, F. A. Methanogenesis in an impacted and two dystrophic coastal lagoons (Macaé, Brazil). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45: 195-203. 2002.

38. FYSON, A.; NIXDORF, B.; KALIN, M. The acidic lignite pit lakes of Germany – microcosm experiments on acidity removal through controlled eutrophication. *Ecological Engineering*, 28: 288-295. 2006.
39. GAGNAIRE, B.; BADO-NILLES, A.; BETOULLE, S.; AMARA, R.; CAMILLERI, V.; CAVALIÉ, I.; CHADILI, E.; DELAHAUT, L.; KERAMBRUN, E.; ORJOLLET, D.; PALLUEL, O.; SANCHEZ, W. Former uranium mine-induced effects in caged roach: a multiparametric approach for the evaluation on situ metal toxicity. *Ecotoxicology*, 24: 215-231. 2015.
40. GAMMONS, C.H.; WOOD, S.A.; JONAS, J.P.; MADISON, J.P. Geochemistry of the rare-earth elements and uranium in the acidic Berkeley pit lake, Butte, Montana. *Chemical Geology*, 198: 269-288. 2003.
41. GYORI, B.M.; VENKATACHALAM, G.; THIAGARAJAN, P.S.; HSU, D.; CLEMENT, M.V. Open Comet: An automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biol*, 2: 457-465. 2014.
42. HERLORY, O.; BONZOM, J.M.; GILBIN, R.; FRELON, S.; FAYOLLE, S.; DELMAS, F.; COSTE, M. Use of diatom assemblages as biomonitor of the impact of treated uranium mining effluent discharge on a stream: case study of the ritord watershed (center-west France). *Ecotoxicology*, 10: 450-462. 2013.
43. HERZSPRUNG, P.; DUFFEK, A.; FRIESE, K.; RECHTER, M.; SCHULTZE, M.; TÜMPLING JUNIOR, W.V. Modification of a continuous flow method for analysis of trace amounts of nitrate in iron-rich sediment pore-waters of mine pit lakes. *Water Research*, 39: 1887-1895. 2005.
44. HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S.; ABESSA, D.M.S.; SOUSA, E.C.P.M. Avaliação da Contaminação por Elementos Metálicos dos Sedimentos do Estuário Santos – São Vicente. *Química Nova*, 31: 10-19. 2008.
45. HRDINKA, T.; SOBR, M.; FOTT, J.; NEDBALOVÁ, L. The unique environment of the most acidified permanently meromictic lake in the Czech Republic. *Limnologica*, 43: 417-426. 2013.
46. INDA, A.V.; QUIÑONES, O.R.G.; GIASSÓN, E.; BISSANI, C.A.; DICK, D.P.; NASCIMENTO, P.C. Atributos químicos relacionados ao processo de sulfurização em solos construídos após mineração de carvão. *Ciência Rural*, 5: 1060-1067. 2010.
47. INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO – IBRAM. Gestão para a sustentabilidade na mineração. Brasília, DF: IBRAM. 2013.
48. JESUS, H.C.; COSTA, E.A.; MENDONÇA, A.S.F.; ZANDONADE, E. Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da ilha de Vitória – ES. *Química Nova*, 27: 378-386. 2004.
49. KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis, SC: FATMA/GTZ. 2004.
50. KOSCHORRECK, M.; WENDT-POTTHOFF, K. A sediment exchange experiment to assess the limiting factors of microbial sulfate reduction in acidic mine pit lakes. *Journal Soils Sediments*, 12: 1615-1622. 2012.
51. KUMARAVEL, T.S.; JHA, A.N. Reliable comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutat. Res.*, 605: 7-16. 2007.
52. LACMA, J.; IANNAcone, J.; VERA, G. Toxicidad del cromo em sedimento usando *Donax obesus* Reeve 1854 (pelecypoda: Donacidae). *Ecologia Aplicada*, 6: 93-99. 2007.
53. LEVY, D.B.; CUSTIS, K.H.; CASEY, W.H.; ROCK, P.A. A comparison of metal attenuation in mine residue and overburden material from an abandoned copper mine. *Applied Geochemistry*, 12: 203-211. 1997.
54. LOTTERMOSER, B.G.; ASHLEY, P.M.; COSTELLOE, M.T. Contaminant dispersion at the rehabilitated Mary Kathleen uranium mine, Australia. *Environ Geol*, 48: 748-761. 2005.
55. MIGASZEWSKI, Z.M.; GALUSZKA, A.; HALAS, S.; DOLEGOWSKA, S.; DABEK, J.; STARNAWSKA, E. Geochemistry and stable sulfur and oxygen isotope ratios of the Podwisniówka pit pond water generated by acid mine drainage (Holy Cross Mountains, south-central Poland). *Applied Geochemistry*, 23: 3620-3634. 2008.
56. MIRLEAN, N.; CASARTELLI, M.R.; GARCIA, M.R.D. Propagação da Poluição Atmosférica por Flúor nas Águas Subterrâneas e Solos de Regiões Próximas às Indústrias de Fertilizantes (Rio Grande, RS). *Revista Química Nova*, 25: 191-195. 2002.
57. MOERI, E.; COELHO, R.; MARKER, A. Remediação e revitalização de áreas contaminadas. São Paulo, SP: Signus. 2004.
58. MOERI, E.N.; RODRIGUES, D.; NIETERS, A. Áreas contaminadas: remediação e revitalização. São Paulo, SP: Signus. 2007.
59. MOLLEMA, P.N.; STUYFZAND, P.J.; JUHÁSZ-HOLTERMAN, M.H.A.; VAN DIEPENBEEK, P.M.J.A.; ANTONELLINI, M. Metal accumulation in an artificially recharged gravel pit lake used for drinking water supply. *Journal of Geochemical Exploration*, 150: 35-51. 2015.

60. MOSER, M.; WEISSE, T. The most acidified austrian lake in comparison to a neutralized mining lake. *Limnologica*, 41: 303-315. 2011.
61. MOZETO, A.A.; UMBUZEIRO, G.A.; JARDIM, W.F. Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce. São Carlos: Cubo Multimídia. 2006.
62. NEIL, L.L.; MCCULLOUGH, C.D.; LUND, M.A.; EVANS, L.H.; TSVETNENKO, Y. Toxicity of acid mine pit lake water remediated with limestone and phosphorus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 2046-2057. 2009.
63. OLIVE, P.L.; BANATH, J.P.; DURAND, R.E. Heterogeneity in radiation induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "Comet" Assay. *Radiation Research*, 122: 86-94. 1990.
64. PELLICORI, D.A.; GAMMONS, C.H.; POULSON, S.R. Geochemistry and stable isotope composition of the Berkeley pit lake and surrounding mine Waters, Butte, Montana. *Applied Geochemistry*, 20: 2116-2137. 2005.
65. PEREIRA, J. C.; GUIMARÃES-SILVA, A. K.; NALINI JÚNIOR, H. A.; PACHECO-SILVA, E.; LENA, J. C. Distribuição, fracionamento e mobilidade de elementos-traço em sedimentos superficiais. *Química Nova*, 30: 1249-1255. 2007.
66. PESSOA, G.P.; SILVEIRA, P.M.; SOUSA, M.R.; SOUZA, N.C.; SANTOS, A.B. Utilização de testes de ecotoxicidade na análise da eficiência de estações de tratamento de esgoto utilizando *Daphnia magna* como bioindicador. In: 26º Congresso Brasileiro de Eng. Sanitária e Ambiental. Anais. Porto Alegre, RS: ABES. 2011.
67. POERSCHMANN, J.; KOSCHORRECK, M.; GÓRECKI, T. Organic matter in sediments of an acidic mining lake as assessed by lipid analysis. Part I: fatty acids. *Science of the Total Environment*, 414: 614-623. 2012.
68. PUSCEDDU, F.H.; ALEGRE, G.F.; PEREIRA, C.D.S.; CESAR, A. Avaliação da toxicidade do sedimento do complexo estuarino de Santos empregando oruíços-do-mar *Lytechinus variegatus* (Echinoidea: Echinodermata). *J. Bras. Soc. Ecotoxicol.*, 2: 237-242. 2007.
69. RAMALHO, E.; CARVALHO, J.; BARBOSA, S.; SANTOS, F.A.M. Using geophysical methods to characterize an abandoned uranium mining site, Portugal. *Journal of Applied Geophysics*, 67: 14-33. 2009.
70. RAMSTEDT, M.; CARLSSON, E.; LÖVGREN, L. Aqueous geochemistry in the Udden pit lake, northern Sweden. *Applied Geochemistry*, 18: 97-108. 2003.
71. RIBEIRO, R.A. Contribuição ao Estudo do Fluoreto nas Águas Subterrâneas da Bacia do Médio Tietê – caracterização e metodologias propostas para sua extração. Dissertação de Mestrado. São Paulo, SP: USP. 1992.
72. ROCHA, L; RODRIGUES, S.M.; LOPES, I.; SOARES, A.M.V.M.; DUARTE, A.C.; PEREIRA, E. The water-soluble fraction of potentially toxic elements in contaminated soils: relationships between ecotoxicity, solubility and geochemical reactivity. *Chemosphere*, 84: 1495-1505. 2011.
73. RODRIGUES, A.S.L.; MALAFAIA, G. Efeitos da exposição ao arsênio na saúde humana. *Ver. Saúde Com.*, 4: 148-159. 2008.
74. ROMERO, F.M.; ARMIENTA, M.A.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, G. Solid-phase control on the mobility of potentially toxic elements in an abandoned lead/zinc mine tailings impoundment, Taxco, Mexico. *Applied Geochemistry*, 22: 109-127. 2007.
75. ROMERO, F.M.; PROL-LEDESMA, R.M.; CANET, C.; ALVARES, L.N.; PÉREZ-VÁZQUEZ, R. Acid drainage at inactive Santa Lucia mine, western Cuba: natural attenuation of arsenic, barium and lead, and geochemical behavior of rare earth elements. *Applied Geochemistry*, 25: 716-727. 2010.
76. ROUSSEL, C.; NÉEL, C.; BRIL, H. Minerals controlling arsenic and lead solubility in an abandoned gold mine tailings. *The Science of the Total Environment*, 263: 209-219. 2000.
77. ROZON-RAMILO, L.D.; DUBÉ, M.G.; RICKWOOD, C.J.; NIYOGI, S. Examining the effects of metal mining mixtures on fathead minnow (*Primephales promelas*) using field-based multi-trophic artificial streams. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 1536-1547. 2011.
78. SÄMY, C.H.; TORRENS, B.M.O.; MEDEIROS, S.H.W. Estudo do impacto ambiental na bacia do rio do Braço através de análises ecotoxicológicas. *Revista de Ciências Ambientais*, 4: 45-55. 2010.
79. SÁNCHEZ, L.E. Avaliação de impacto ambiental – conceitos e métodos. São Paulo, SP: Oficina de Textos. 2008.
80. SÁNCHEZ-ESPAÑA, J.; PAMO, E.L.; PASTOR, E.S.; ERCILLA, M.D. The acidic mine pit lakes of the Iberian Pyrite Belt: an approach to their physical limnology and hydrogeochemistry. *Applied Geochemistry*, 23: 1260-1287. 2008.

81. SANTOFIMIA, E.; LÓPEZ-PAMO, E.; REYES, J. Changes in stratification and iron redox cycle of an acidic pit lake relation with climatic factors and physical processes. *Journal of Geochemical Exploration*, 116-117: 40-50. 2012.
82. SHEVENELL, L.A. Water quality in pit lakes in disseminated gold deposits compared to two natural, terminal lakes in Nevada. *Environmental Geology*, 39: 807-815. 2000.
83. SHUQAIR, S.M.S. Estudo da Contaminação do Solo e Água Subterrânea por Elementos Tóxicos Originados dos Rejeitos de Minas de Carvão de Figueira no Estado do Paraná. Tese de Doutorado. São Paulo, SP: USP. 2002.
84. SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. Genética toxicológica. Porto Alegre, RS: Alcance. 2003.
85. SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175: 184-191. 1988.
86. SISINNO, C.L.S.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. Princípios de toxicologia ambiental. Rio de Janeiro, RJ: Interciência. 2013.
87. SKIPPERUD, L.; JØRGENSEN, A.G.; HEIER, L.S.; SALBU, B.; ROSSELAND, B.O. Po-210 and Pb-210 in water and fish Taboshar uranium mining pit lake, Tajikistan. *Journal of Environmental Radioactivity*, 123: 82-89. 2013.
88. TRIANTAFYLIDIS, S.; SKARPELIS, N. Mineral formation in an acid pit lake from a high-sulfidation ore deposit: Kirki, NE Greece. *Journal of Geochemical Exploration*, 88: 68-71. 2006.
89. VALE, M.S.; ABREU, K.V; GOUVEIA, S.T.; LEITÃO, R.C. SANTAELLA, S.T. Efeito da toxicidade de Cr (VI) e Zn (II) no crescimento do fungo filamentososo *Aspergillus niger* isolado de efluente industrial. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 3: 237-244. 2011.
90. VIANA, M.G.; PIMENTEL, M.M.; WHITEHOUSE, M.J.; FUCK, R.A.; MACHADO, N. O Arco Magmático de Mara Rosa, Goiás: geoquímica e geocronologia e suas implicações regionais. *Revista Brasileira de Geociências*, 25: 111-123. 1995.
91. YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Food Chemistry. *Toxicology*, 38: 587-598. 2000.
92. YUCEL, D.S.; BABA, A. Geochemical characterization of acid mine lakes in northwestern Turkey and their effect on the environment. *Arch Environ Contam Toxicol*, 64: 357-376. 2013.
93. ZAGATTO, P.A. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos, SP: Rima. 2008.
94. ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos, SP: Rima. 2008.
95. ZHU, X.; ZHU, L.; LI, Y.; DUAN, Z.; XHEN, W.; ALVAREZ, P.J.J. Developmental toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos after exposure to manufactured nanomaterials: buckminsterfullerene aggregates (nC60) and fullerol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26: 976-979. 2007.