

Série Tecnologia Ambiental

(Eco)toxicologia de Metais em Solos: Conceitos, Métodos e Interface com a Geoquímica Ambiental

Ricardo Gonçalves Cesar
Zuleica Carmen Castilhos
Ana Paula de Castro Rodrigues
Edison Dausacker Bidone
Sílvia Gonçalves Egler
Helena Polivanov

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

**(Eco)toxicologia de Metais em Solos: Conceitos,
Métodos e Interface com a Geoquímica Ambiental**

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Dilma Vana Rousseff

Presidente

Michel Miguel Elias Temer Lulia

Vice-Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

Clelio Campolina Diniz

Ministro da Ciência e Tecnologia

Alvaro Toubes Prata

Secretário-Executivo

André Tortato Rauem

Subsecretário de Coordenação das Unidades de Pesquisa

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

Fernando Antonio Freitas Lins

Diretor

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais

Claudio Luiz Schneider

Coordenador de Processos Minerais

Cosme Antônio de Moraes Regly

Coordenador de Administração

Francisco Wilson Hollanda Vidal

Coordenador de Apoio Tecnológico às Micro e Pequenas Empresas

Jackson de Figueiredo Neto

Coordenador de Planejamento, Gestão e Inovação

Ronaldo Luiz Correa dos Santos

Coordenador de Processos Metalúrgicos e Ambientais

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

ISSN 0103-7374

ISBN 978-85-8261-026-8

STA - 69

(Eco)toxicologia de Metais em Solos: Conceitos, Métodos e Interface com a Geoquímica Ambiental

Ricardo Gonçalves Cesar

DSc. Geógrafo

Zuleica Carmen Castilhos

DSc. Farmacêutica

Ana Paula de Castro Rodrigues

DSc. Bióloga

Edison Dausacker Bidone

DSc. Geólogo

Silvia Gonçalves Egler

MSc. Bióloga

Helena Polivanov

DSc. Geóloga

CETEM/MCTI

2014

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

Luis Gonzaga Sobral

Editor

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Subeditora

CONSELHO EDITORIAL

Mariza Bezerra de M. Monte (CETEM), Paulo Sergio M. Soares (CETEM), Saulo Rodrigues P. Filho (CETEM), Sílvia Gonçalves Egler (CETEM), Vicente Paulo de Souza (CETEM), Antonio Carlos A. da Costa (UERJ), Fátima Maria Z. Zotin (UERJ), Jorge Rubio (UFRGS), José Ribeiro Aires (CENPES), Luis Enrique Sanches (EPUSP) e Virginia S. Ciminelli (UFMG).

A Série Tecnologia Ambiental divulga trabalhos relacionados ao setor minerometalúrgico, nas áreas de tratamento e recuperação ambiental, que tenham sido desenvolvidos, ao menos em parte, no CETEM.

O conteúdo desse trabalho é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Valéria Cristina de Souza

Coordenação Editorial

Valéria Cristina de Souza

Editoração Eletrônica

Andreza Milheiro

Revisão

Cesar, Ricardo Gonçalves

(Eco)toxicologia de metais em solos: conceitos, métodos e interface com a geoquímica ambiental / Ricardo Gonçalves Cesar [et al.]. __Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2014.

100p. (Série Tecnologia Ambiental, 69).

1. Geoquímica ambiental. 2. Ecotoxicologia. 3. Bioensaios. 4. Solos. I. Centro de Tecnologia Mineral. II. Cesar, Ricardo Gonçalves. III. Castilhos, Zuleica Carmen. IV. Rodrigues, Ana Paula de Castro. V. Egler, Sílvia Gonçalves. VI. Polivanov, Helena. VII. Título. VIII. Série.

CDD – 574.52

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 ECOTOXICOLOGIA: UMA ABORDAGEM CONCEITUAL	9
2 SAÚDE HUMANA E AMBIENTAL EM GEOCIÊNCIAS	12
2.1 Mapeamento Geoquímico de Baixa Densidade	14
3 ECOTOXICOLOGIA E GEOQUÍMICA: CONCEITOS ESSENCIAIS	16
3.1 Geodisponibilidade	16
3.2 Biodisponibilidade	17
3.3 Bioacessibilidade	19
4 ABORDAGEM GEOCIÊNCIA	21
4.1 Suportes Geoquímicos	21
4.2 Metais-traços: Aspectos Ambientais e (Eco)toxicológicos	27
4.3 Índices de Poluição	31
4.4 Extrações: Sequencial e Seletiva	37
4.5 Ensaios de Batelada	38
4.6 Ensaios de Coluna	39
5 ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE, ATRIBUTOS GEOQUÍMICOS E INTERFACE COM A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA	43

6 ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA: MÉTODOS E APLICAÇÕES	46
6.1 Avaliação de Risco Ecológico	47
6.2 Bioensaios como Ferramenta de Monitoramento	52
6.3 Bioensaios com Oligoquetas (<i>Eisenia andrei</i>)	57
6.4 Bioensaios com Colêmbolos (<i>Folsomia candida</i>)	66
6.5 Bioensaios com Enquitreídeos (<i>Enchytraeus crypticus</i>)	72
6.6 Bioensaios com Microcrustáceos (<i>Daphnia similis</i>)	75
6.7 Bioensaios com Algas (<i>Pseudokirchneriella subcaptata</i>)	78
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

RESUMO

A contaminação por metais tem despertado a atenção da comunidade científica devido aos severos danos que esses elementos podem trazer à saúde humana e ao meio ambiente. Neste sentido, a presente publicação apresenta uma análise reflexiva acerca de alguns conceitos e métodos fundamentais que frequentemente permeiam os estudos de contaminação por metais em geoquímica ambiental e em ecotoxicologia de solos, incluindo a apresentação de estudos de casos descritos pela literatura científica. A ecotoxicologia de solos possui diversos desafios na avaliação de impactos na região tropical, sobretudo no que se refere à padronização de bioensaios capazes de refletir as especificidades biológicas da fauna edáfica tropical, bem como as propriedades físicas, químicas e mineralógicas de substratos pedológicos tropicais. Sob esse contexto, é possível verificar a existência de uma complementaridade entre as perspectivas analíticas em geoquímica ambiental e em ecotoxicologia. Dessa forma, a análise reflexiva demonstra que a integração metodológica entre as referidas abordagens é de suma importância ao estabelecimento de valores referência de qualidade ambiental e de indicadores de sustentabilidade de solos para regiões tropicais para, com isso, dar suporte à tomada de decisão em medidas de saúde pública e de controle ambiental.

Palavras-chave

Geoquímica ambiental, ecotoxicologia, bioensaios, solos.

ABSTRACT

Metal contamination has become an important topic for the scientific community due to the potential occurrence of serious damages to soil ecosystem. In this sense, the present work presents a reflexive analysis on some frequently concepts and methods used by geochemists and ecotoxicologists to evaluate impacts from contamination events. Some examples from the literature were also presented. The results revealed the existence of some challenges for soil ecotoxicology area, especially those related to the standardization of bioassays adapted to tropical edaphic fauna and to the physical, chemical and mineralogical properties of tropical soils. In this context, a complementarity was identified between the geochemical and ecotoxicological perspectives of analysis. Thus, the methodological integration between such approaches is extremely important to establish sustainable indicators and reference values of environmental quality, and to decision-makers in actions of public health and environmental control.

Keywords

Environmental geochemistry, ecotoxicology, bioassays, soils.

1 | ECOTOXICOLOGIA: UMA ABORDAGEM CONCEITUAL

A ecotoxicologia é o ramo da toxicologia ambiental que trata do estudo dos efeitos nocivos provocados à biota decorrentes da exposição a agentes tóxicos. Entretanto, é comum empregar o termo toxicologia ambiental para se referir somente aos efeitos causados a humanos, enquanto o termo ecotoxicologia é mais frequentemente utilizado para os estudos focados nos demais seres vivos. Rand *et al.* (1995 *apud* Chasin e Azevedo, 2004) ainda definem a ecotoxicologia como o “*estudo do destino e dos efeitos das substâncias químicas sobre o ecossistema, com base em métodos de laboratório e campo, considerando suas inter-relações no ecossistema e atuação nos organismos*”.

A partir dos pressupostos fundamentais da toxicologia clássica (Tabela 1), a proposta de avaliação da toxicidade sob o viés ecotoxicológico consiste no prognóstico de potenciais efeitos adversos à saúde dos ecossistemas terrestre e aquático. Neste sentido, a ecotoxicologia de solos dedica-se ao entendimento dos mecanismos de ação de agentes tóxicos presentes no solo sobre o ecossistema, visando à manutenção da saúde da biota edáfica e da flora terrestre.

Tabela 1. Diferenças entre a Toxicologia Clássica e a Ecotoxicologia.

Tópico	Toxicologia Clássica	Ecotoxicologia
Objetivos	Objetivo: proteger os seres humanos da ação de substâncias tóxicas em concentrações que estão ou podem estar associadas a efeitos adversos.	Objetivo: proteger populações e comunidades de diferentes espécies da ação de substâncias tóxicas em concentrações que podem estar associadas a efeitos adversos.
Modelos biológicos	Utiliza animais de experimentação como modelos. Em alguns casos, há dados disponíveis acerca de doses vs efeitos adversos em humanos (informações oriundas de acidentes envolvendo contaminações).	Pode utilizar as próprias espécies em questão (embora possa haver muitas incertezas sobre a propriedade das mesmas como sendo o melhor indicador de efeito ou de suscetibilidade)
Espécie-alvo	A espécie-alvo é conhecida (homem); maior precisão na extrapolação de dados.	Impossível conhecer e testar todas as espécies a serem protegidas; grau de extrapolação incerto. Em alguns casos, o alvo pode ser poucas espécies (depende da abrangência da avaliação de risco).
Dose vs Exposição	A dose da substância administrada pode ser medida com precisão e também podem ser estabelecidas as vias de exposição.	A exposição se dá pelas concentrações da substância no meio e a dose absorvida só é determinada por meio de experimentos de bioacumulação e metabolismo.
Doses de referência tóxica	Há dados disponíveis sobre pesquisa básica na elucidação dos mecanismos de ação tóxica.	A ênfase se dá na medição do efeito tóxico, com vistas ao estabelecimento de dados de concentrações-limite para cumprir exigências obrigatórias.
Arcabouço metodológico	Os métodos de avaliação de toxicidade são bem estabelecidos no que tange a certezas e limites.	Os ensaios utilizados são relativamente novos, sendo alguns deles padronizados.

Fonte: Adaptado de Rand *et al.* (1995 apud Azevedo e Chasin, 2004).

Embora a base teórico-metodológica da ecotoxicologia esteja fortemente fundamentada nas premissas da toxicologia humana, esses campos do saber diferem basicamente no objeto de estudo. A avaliação da saúde de um ecossistema deve englobar, por excelência, receptores ecológicos de diferentes níveis tróficos, bem como organismos de distintas complexidades biológicas. Assim, enquanto a toxicologia humana está preocupada com uma única espécie (a humana), a ecotoxicologia trata de distintos receptores, de suas interações ecológicas e com os diversos compartimentos e processos biogeoquímicos inerentes ao meio em que vivem. Dessa forma, a avaliação de risco ecológico tende a se tornar muito mais complexa e abrangente se comparada à análise de risco à saúde humana.

A presente publicação trata de conceitos e procedimentos aplicáveis a solos que apresentam, ou não, anomalias naturais e/ou contaminações geradas a partir da disposição inadequada de contaminantes sobre o continente (seja na forma de dejetos, resíduos ou efluentes). Estes procedimentos são essenciais para a avaliação de risco em sítios perigosos associados à contaminação por metais e outras substâncias, sobretudo em áreas urbano-industriais e de mineração. Ainda, eles são importantes na fase de planejamento e/ou de avaliação da viabilidade técnico-econômica-ambiental-social da possível necessidade de disposição de rejeitos em solos.

2 | SAÚDE HUMANA E AMBIENTAL EM GEOCIÊNCIAS

A incorporação de aspectos associados à saúde humana e ambiental é clássica em diversos campos do saber geocientífico. Dentre esses, a geografia médica (ou geografia da saúde) talvez seja o mais clássico e consolidado desses ramos (Lacaz *et al.* 1972; Bonfim e Medeiros, 2008), tratando da avaliação de padrões espaciais na ocorrência de patologias. Por outro lado, a maioria das pesquisas em geografia médica esteve fortemente focada na saúde humana, sendo escassos os estudos sobre a saúde da biota. De fato, um dos mais importantes e clássicos estudos de geografia médica, intitulado *Geografia da Fome* (do médico e geógrafo Josué de Castro), expressa de forma clara a ênfase atribuída aos estudos de saúde humana (Bonfim e Medeiros, 2008), em detrimento à saúde ambiental.

Dentro do contexto das ciências atmosféricas, a biometeorologia humana e a bioclimatologia aparecem como campos clássicos de interface entre fatores geoambientais e saúde. Esses ramos do saber se dedicam, basicamente, ao estudo da influência de variáveis meteorológicas (temperatura, precipitação, pressão atmosférica, ventos, etc.) e climáticas (mais sazonais) sobre a saúde e o bem-estar humano. Neste sentido, a influência de aerossóis atmosféricos (incluindo pólenes de plantas) sobre o sistema respiratório, e pesquisas no âmbito do conforto térmico são temáticas, por exemplo, frequentemente abordadas por esses pesquisadores. Mais recentemente, biometeorologistas e bioclimatologistas têm também se dedicado ao impacto local e regional da poluição atmosférica e das mudanças climáticas sobre a proliferação de doenças. Por exemplo, Campos (2009), ao estudar as

ocorrências de dengue no interior do Estado de São Paulo, propôs um modelo (calcado em métodos estatísticos e redes neurais artificiais) para explicar sua distribuição e densidade, utilizando variáveis meteorológicas.

A partir da década de 70, com o advento dos estudos ambientais, a geologia e a geoquímica ambiental adquirem considerável importância no contexto das ciências ambientais. Até então, boa parte das pesquisas em geologia estava fortemente calcada em aspectos da geologia econômica e/ou da geoquímica de prospecção, sobretudo o mapeamento de jazidas minerais. O paradigma ambiental em geociências possibilitou a emergência de um ramo promissor no âmbito da geoquímica: a geoquímica médica - cujo enfoque principal era o estudo da influência do ambiente geoquímico sobre a saúde humana e ambiental (Vasconcellos, 2011), inclusive com foco na exposição a metais. A geoquímica médica possibilitou a ampliação dos estudos multidisciplinares em geoquímica, agregando conhecimentos oriundos da ecologia, toxicologia e farmacologia às geociências.

A partir do arcabouço teórico-metodológico da geoquímica médica, consolida-se mais recentemente outro campo multidisciplinar e mais sistematizado em geociências, cujo interesse recai sobre a interface entre ambiente e saúde: a geologia médica. De acordo com Sellinus (2004), a geologia médica trata do estudo dos fatores geológicos sobre a saúde humana e dos animais. Neste sentido, o termo "saúde dos animais" parece restringir o campo de atuação da geologia médica (já que "animais" não incluem plantas ou microorganismos), quando na verdade o termo "biota" poderia ser mais apropriado. Uma vez que se trata de um campo emergente, a conceituação de geologia médica poderá ainda

sofrer alterações que melhor expressem sua proposta de atuação como ciência. A geologia médica, ao propor o estudo da influência dos fatores geológicos na saúde ambiental, frequentemente interage com a ecotoxicologia, sobretudo no que diz respeito à predição e estudo de riscos de efeitos tóxicos de elementos e/ou substâncias químicas presentes naturalmente na crosta terrestre.

2.1 | Mapeamento Geoquímico de Baixa Densidade

Em 2003, o Serviço Geológico do Brasil (CPRM) deu início ao Programa Nacional de Pesquisa em Geoquímica Ambiental e Geologia Médica (PGAGEM) (Silva, 2008), com base no mapeamento geoquímico multi-elementar de baixa densidade. Este programa de pesquisa está fortemente baseado nos mapeamentos pioneiros realizados na região setentrional da Europa (coordenados por grupos finlandeses de pesquisa), incluindo o projeto Kola Ecogeochemistry (1992-1996) (Reimman e Garret, 2005; Reimann *et al.* 2008); o Baltic Soil Survey (Reimann *et al.* 2003); e o Barents Ecogeochemistry (1999-2003; Salminen *et al.* 2004). No Brasil, os primeiros mapeamentos geoquímicos associados à identificação de potenciais efeitos adversos à saúde humana envolveram: (i) o Estado do Paraná, com a identificação de anomalias de flúor associadas à ocorrência de fluorose dentária (Licht *et al.* 1996); e (ii) o Vale do Ribeira (SP), com a verificação de anomalias de chumbo e arsênio (Paoliello *et al.* 2002; Moraes *et al.* 2004; Figueiredo *et al.* 2007), incluindo, em alguns estudos, a avaliação epidemiológica da exposição.

De fato, mesmo em ambientes naturais e sem impactos antropogênicos, a distribuição espacial de metais e outros elementos-traços varia substancialmente na superfície

terrestre, e afeta de maneira bastante efetiva a ocorrência de patologias decorrentes da intoxicação por elementos tóxicos ou deficiência de elementos-traços essenciais (Sellinus, 2004). Caussy *et al.* (2003) apontam, por exemplo, para a existência de áreas deficientes em iodo e selênio, na América do Norte e na China, bem como regiões geográficas com teores excessivos de As na Ásia Meridional; associando esta última ao aumento do número de casos de câncer. Oruc (2008) ainda reporta a existência de áreas com excesso de flúor na Turquia, e aumento de casos de fluorose dentária em decorrência do consumo de água contaminada.

Além das implicações médicas, o mapeamento das concentrações e anomalias de metais em escala nacional é de fundamental importância na determinação de *backgrounds* geoquímicos regionais, bem como na definição de indicadores regionais de sustentabilidade e de teores de referência de qualidade ambiental - necessidade requerida pela legislação brasileira através da Resolução 420 do CONAMA (2009). Neste sentido, tais mapeamentos se tornam imprescindíveis a qualquer tipo de planejamento ou tomada de decisão em medidas de saúde pública e de controle ambiental (incluindo ações de remediação, gerenciamento de bacias hidrográficas, zoneamento ecológico, exploração mineral, urbanização, planejamento da agricultura e pecuária, entre outros). Além disso, estudos de caráter regional são altamente promissores na medida em que não somente servem de base para trabalhos futuros, mas também contribuem para a compreensão da distribuição espacial desses elementos através da interpretação integrada de dados de uso da terra, clima, geomorfologia, pedologia, geologia e informações relacionadas ao bioma.

3. ECOTOXICOLOGIA E GEOQUÍMICA: CONCEITOS ESSENCIAIS

A ecotoxicologia e a geoquímica ambiental compartilham de alguns conceitos básicos, tais como: a geodisponibilidade, biodisponibilidade e bioacessibilidade. Sob os primas da geoquímica ambiental e da ecotoxicologia, tais conceitos são metodologicamente explorados de formas diferentes, mas suas percepções são complementares e transcendem a multidisciplinaridade fundamental aos estudos ambientais.

3.1 | Geodisponibilidade

O conceito de geodisponibilidade é amplamente difundido em geoquímica, e trata da concentração total do elemento no meio geológico (água, ar, solos ou sedimentos) (Cortecci, 2013). Trata-se de um conceito consagrado pela geologia econômica, e comumente aplicado aos estudos de prospecção mineral, sobretudo na identificação e mapeamento de anomalias geoquímicas economicamente exploráveis (Cortecci, 2013). De fato, no contexto do conceito de geodisponibilidade e dos pressupostos do mapeamento geoquímico de baixa densidade que estão calcados os estudos de geologia médica. Além disso, a noção de geodisponibilidade é também muito empregada na geração de índices de poluição em geoquímica (Müller, 1979).

Em geoquímica ambiental, o conceito de contaminação aparece intrinsecamente ligado à noção de geodisponibilidade. Dessa forma, o termo “contaminação” é concebido como qualquer anomalia da concentração (total) do metal que excede

o nível de base (*background*) da geologia regional. A partir dessa noção de contaminação é que emerge o termo “pontos-quentes” (*hot-spots*), i.e., localidades do espaço geográfico que apresentam concentrações de metais acima do que é habitualmente encontrado para a geoquímica regional.

Em ecotoxicologia, considera-se que, embora o pior cenário seja a completa disponibilidade da concentração total do metal no compartimento abiótico, este cenário muitas vezes é de baixa probabilidade e, portanto, não reflete a real disponibilidade ao ecossistema. Neste contexto, anomalias geoquímicas não obrigatoriamente representam riscos à saúde da biota, mas servem de alerta para futuras investigações visando o detalhamento da toxicidade potencial.

3.2 | Biodisponibilidade

Em geoquímica ambiental, o conceito de biodisponibilidade de metais sempre esteve muito ligado à noção de presença na fração dissolvida, como íon e, portanto, com mobilidade geoquímica. Dessa forma, frações geoquímicas solúveis e de alta mobilidade são frequentemente concebidas como aquelas potencialmente biodisponíveis. O fracionamento geoquímico de metais é comumente realizado através do emprego de métodos de extrações sequenciais e/ou seletivas (Tessier *et al.* 1979; Gleyses *et al.* 2002; Amir *et al.* 2005; Cesar *et al.* 2011). Além desses métodos, ensaios de batelada e de coluna também são usualmente utilizados na avaliação da mobilidade e da biodisponibilidade potencial (Alamino *et al.* 2007; Demuelenaere, 2010).

Em ecotoxicologia, a noção de biodisponibilidade está associada à fração geoquímica (disponível no meio abiótico) incorporada pelo organismo (Cassaret e Doll's, 1999). Dessa forma, a noção de biodisponibilidade adquire uma perspectiva mais abrangente, requerendo a compreensão não somente dos mecanismos que controlam a mobilidade geoquímica do contaminante, mas também o papel da biologia do organismo sobre os processos de absorção do contaminante. Sob esta perspectiva, a noção de biodisponibilidade deve ponderar, sobretudo, o binômio agente tóxico-biota exposta. Para tanto, deve considerar diversos aspectos, como as propriedades físico-químicas do xenobionte, as características e diferenciações individuais das espécies estudadas, vias de exposição, e duração e frequência da exposição (Cassaret e Doll's, 1999). Deve-se também considerar a possibilidade da co-existência de diversas formas químicas dos contaminantes e suas características físico-químicas que influenciam na absorção por membranas biológicas.

Meyer (2002) propõe uma discussão importante a respeito do emprego dos termos “biodisponibilidade” e “fração biodisponível”. Segundo o autor, “fração biodisponível” deve compreender, por excelência, a integração de processos ecológicos, toxicológicos e geoquímicos. Dessa forma, a determinação quantitativa desta componente se torna extremamente difícil e complexa, uma vez que depende diretamente da biologia e vias de exposição de todos os receptores ecológicos envolvidos na análise de risco.

3.3 | Bioacessibilidade

O conceito de bioacessibilidade diz respeito à fração biodisponível do metal que é de fato absorvida pelos processos metabólicos (Bosso, 2007). Neste sentido, processos de biotransformação interna de metais (em especial, na valência desses elementos) adquirem papel de suma relevância na redução/aumento da toxicidade e no sítio de ação do xenobionte no organismo. Além disso, deve-se considerar também os efeitos sinérgicos, aditivos e antagônicos da ação de contaminantes sobre o metabolismo. Em suma, nem todo metal geodisponível está biodisponível e, por sua vez, nem toda fração biodisponível está necessariamente bioacessível (Figura 1).

Em geologia médica, a bioacessibilidade de metais em solos tem sido explorada através de extrações químicas capazes de simular a solubilização do material no sistema digestivo. Dessa forma, são utilizados extratores ácidos que remetem às condições gastro-intestinais (Bosso, 2007). Portanto, essa abordagem analítica privilegia a via oral de exposição ao contaminante, em detrimento à inalação e à via dermal. Alguns autores ainda empregam o termo "biodisponibilidade oral" para se referir à *"fração da dose administrada que atinge a circulação sanguínea a partir do trato gastro-intestinal"* (Bosso e Enzweiler, 2008). Em geologia médica, boa parte destas pesquisas ainda está fortemente focada em saúde humana - a exemplo da pesquisa executada na região do Vale do Ribeira (SP) por Bosso (2007) – sendo ainda muito escassos os estudos voltados à saúde da fauna edáfica e aquática.

Os estudos de bioacessibilidade em ecotoxicologia terrestre são extremamente promissores no sentido de proporcionar um

conhecimento mais consolidado a respeito da ecotoxicidade do solo. Para tanto, o conhecimento da biologia do organismo e das vias da exposição são de fundamental importância, sobretudo no que se refere à determinação fração geoquímica do contaminante que pode ser de fato solubilizada, assimilada e/ou biotransformada pelo metabolismo animal. Uma vez que o ecossistema contempla organismos de distintas complexidades biológicas, esta tarefa torna-se difícil e extremamente desafiadora, e pode requerer a colaboração de profissionais de áreas diversas, incluindo biologia, farmácia, medicina veterinária e zootecnia.

Em termos operacionais, a geodisponibilidade e, sobretudo, a biodisponibilidade têm sido mais frequentemente exploradas na avaliação do risco ecotoxicológico. De fato, a realização de prognósticos acerca da fração bioacessível ao metabolismo animal é muito complexa. Por outro lado, o conhecimento mais detalhado da biologia dos receptores ecológicos envolvidos na análise de risco pode ajudar bastante nesta tarefa.

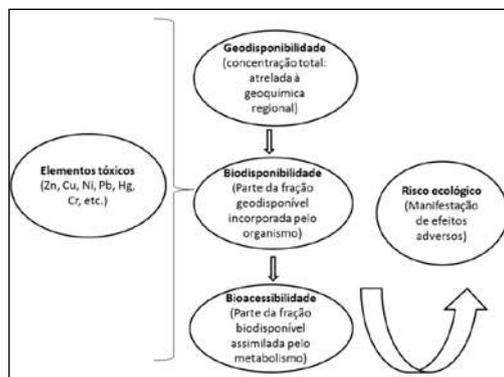


Figura 1. Bioacessibilidade e suas relações com as disponibilidades biológica e geológica.

4. | ABORDAGEM GEOCIENTÍFICA

4.1 | Suportes Geoquímicos

Suportes geoquímicos são indicadores-chave do comportamento de metais e outros contaminantes em solos e sedimentos. Via de regra estes suportes são minerais e matéria orgânica. A presença desses suportes no ambiente pode alterar de maneira bastante efetiva a mobilidade e a biodisponibilidade de elementos ou substâncias tóxicas no ecossistema e, dessa forma, sua identificação é extremamente relevante em avaliações de risco ecológico. Em outras palavras, a resultante da atuação simultânea desses suportes determina os teores potencialmente biodisponíveis no solo, cuja assimilação biótica dependerá das vias exposição e da biologia do organismo.

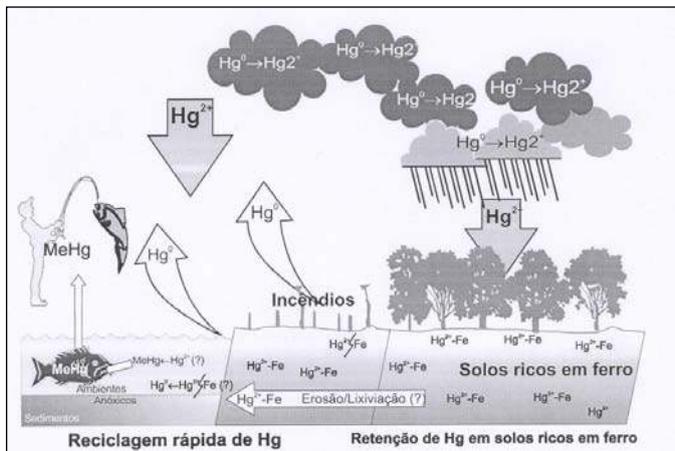
4.1.1 | Propriedades do Solo e Indicadores Geoquímicos

O pH, ao assumir valores ácidos, favorece a oxidação, solubilização e mobilização de metais no ambiente (Rodrigues-Filho e Maddock 1997). O aumento da disponibilidade de H^+ no meio pode provocar instabilidade na eletrosfera dos metais, favorecendo sua partição para a fração positivamente carregada, dissolvida, complexada ou coloidal. A partir dessa premissa e com base nas condições ideais da termodinâmica, algumas informações sobre a mobilidade dos metais podem ser obtidas considerando sua solubilidade e suas formas químicas predominantes em função das condições de pH-Eh (Garrels and Christ, 1965; Drever, 1997; Brookins, 1986; Rodrigues-Filho e Maddock, 1997).

O potencial de oxi-redução (Eh), indicador do grau de disponibilidade de elétrons no ambiente, afeta diretamente o estado de oxidação dos elementos no ambiente (Garrels e Christ, 1965; Krauskopf, 1967; Drever, 1997; Rodrigues-Filho e Maddock 1997), influenciando, assim, sua solubilidade, forma química e toxicidade. A sílica, o alumínio e o ferro são elementos que possuem baixa solubilidade sob condições de pH-Eh não-anômalas e são muito utilizados na normalização de dados geoquímicos, especialmente em ambientes tropicais (Aloupi e Angelidis, 2001). A sílica, por exemplo, é um excelente indicador de qualidade de solos e sedimentos aquáticos em áreas impactadas por drenagem ácida de minas, devido à sua baixa solubilidade sob condições ácidas. Castilhos *et al.* (2010), por exemplo, encontraram correlações inversas entre os teores totais de sílica e o somatório das concentrações de Fe e Al em sedimentos fluviais afetados por drenagem ácida de minas no sudeste de Santa Catarina, sugerindo que enquanto o Fe e Al alteravam sua mobilidade em função do pH, enquanto a sílica permanecia menos móvel nos sedimentos.

A quantificação dos teores totais de ferro total também pode fornecer informações valiosas sobre o comportamento de metais no ambiente. Metais pesados possuem forte afinidade com oxihidróxidos de ferro (abundantes em solos tropicais), sendo o Fe total um bom indicador da abundância dessas assembleias minerais (Roulet e Lucotte, 1995; Hylander *et al.* 2000; Cesar *et al.* 2011). Neste sentido, a abundância de goethita (FeOOH) e hematita (Fe_2O_3) (principalmente) podem diminuir significativamente a biodisponibilidade e a toxicidade de metais em solos. As limonitas ($\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$), hidróxidos de ferro amorfos, podem também exercer papel fundamental nestes processos.

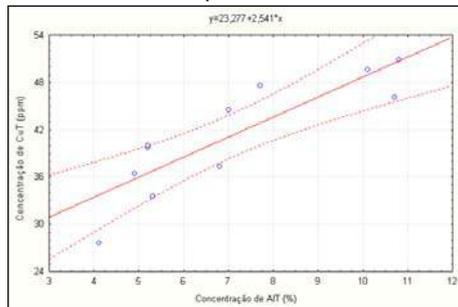
Experimentos de laboratório propõem ordens preferenciais de adsorção de metais pela hematita ($Pb > Cu > Zn > Co > Ni > Mn$) (McKenzie, 1989) e pela goethita ($Pb > Cu > Zn > Co > Ni > Cd$) (Fischer *et al.* 2007). De fato, Rodrigues-Filho e Maddock (1997), ao estudarem a mobilidade potencial de mercúrio em solos de uma área degradada pela mineração de ouro, encontraram relações positivas e significativas entre os teores totais de Fe e Hg total, atribuindo aos oxi-hidróxidos de Fe papel fundamental na redução da mobilidade e da biodisponibilidade. Wasserman *et al.* (2001) e Wasserman *et al.* (2003) também apontam os oxi-hidróxidos de ferro como importantes carreadores geoquímicos de Hg no ambiente amazônico (Figura 2), os quais seriam capazes de diminuir sua mobilidade e biodisponibilidade.



Fonte: Wasserman *et al.* (2001).

Figura 2. Modelo esquemático do ciclo biogeoquímico do mercúrio na Amazônia, com destaque para o papel dos óxidos e hidróxidos de ferro na retenção mercurial.

Outra fase mineral relevante nos mecanismos de mobilidade de metais em solos é a gibbsita $[(Al(OH)_3)]$. A gibbsita possui forte afinidade com metais pesados (Hylander *et al.* 2000; Cesar *et al.* 2011), e possui papel relevante na mobilidade de metais em ambientes submetidos a intenso intemperismo. De acordo com Hsu (1989), os hidróxidos de Al possuem a seguinte ordem preferencial para adsorção de metais: $Cu > Pb > Zn > Co > Ni > Mn$. Cesar *et al.* (2011), por exemplo, ao avaliar a mobilidade potencial de cobre em uma área de garimpo de ouro abandonada, detectaram relações positivas e significativas entre as concentrações totais de Cu e de Al em solos (Figura 3). Naquele estudo, os autores atribuíram a abundância de gibbsita (associada à presença de depósitos de bauxita) para a explicar a baixa mobilidade e biodisponibilidade do metal. Weerasooriya *et al.* (2003) também descrevem alguns mecanismos de adsorção de arsênio em gibbsita, sugerindo que o referido mineral desempenha papel vital na fixação do metal e decréscimo da biodisponibilidade.



Fonte: Adaptado de Cesar et al. (2011).

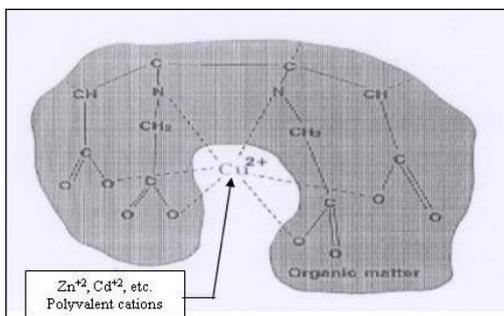
Figura 3. Relação positiva de dependência entre as concentrações totais de cobre, e os percentuais totais de alumínio em solos oriundos de área contaminada no município de Descoberto (MG). A linha tracejada representa o intervalo de 95% de confiança.

A presença diferenciada de argilominerais constitui outro atributo de suma importância na interpretação dos processos de retenção de elementos-traços no ambiente, sendo a determinação de Al total um indicador da abundância dessas assembleias minerais. Sabidamente, argilominerais 2:1 possuem maior potencial de adsorção e de troca de cátions quando comparados a minerais de argila do tipo 1:1. Neste sentido, Triegel (1980) apresenta a seguinte série de preferência de adsorção de cátions divalentes em função de distintos minerais de argila: (i) caulinita: $Cd < Zn < Mg < Cu < Ca < Pb$; (ii) illitas: $Mg < Cd < Ca < Zn < Cu < Pb$; (iii) esmectitas: $Zn < Cd < Mg < Cu < Pb < Ca$. A abundância dessas assembleias minerais está fortemente associada ao grau de intemperização ao qual o material foi submetido, sendo abundante a presença de caulinita em solos tropicais (geralmente mais intemperizados). A presença de argilominerais expansivos pode alterar significativamente os processos de disponibilização de cátions para a solução do solo e, conseqüentemente, para organismos fortemente dependentes dessa fase aquosa, como plantas ou oligoquetas (Cesar *et al.* 2014a; Cesar *et al.* 2014b).

A matéria orgânica é crucial na fixação de metais e poluentes orgânicos no ambiente, sendo a quantificação do COT (carbono orgânico total) o seu principal indicador (Yin *et al.* 1996; Cesar *et al.* 2011a). As moléculas de matéria orgânica, uma vez em déficit eletrônico, são capazes de sequestrar cátions metálicos em solução, formando complexos estáveis (Figura 4). Neste sentido, é importante assinalar que a geoquímica da matéria orgânica possui papel importante nesses processos, sendo que os ácidos húmicos possuem geralmente afinidade mais forte com metais do que as

substâncias fúlvicas. Em solos, Yin *et al.* (1996) propõem a seguinte ordem de afinidade para alguns metais: $Zn > Cu > Pb > Hg$. De fato, zinco e cobre são bons indicadores de contaminação por esgoto doméstico, estando dessa forma bem correlacionados com a abundância de matéria orgânica (Cesar *et al.* 2011; Cesar *et al.* 2013).

A presença e distribuição de matéria orgânica no ambiente é, em geral, fortemente controlada pela textura do solo ou sedimento, visto que a matéria orgânica não forma complexos com partículas grosseiras, a exemplo dos complexos argilo-húmicos (Windmüller *et al.* 2007). De fato, Cesar *et al.* (2011a), ao realizarem a determinação granulométrica e a quantificação dos teores de matéria orgânica em sedimentos de corrente na bacia do Rio Piabanha (RJ), detectaram correlações positivas e significativas entre os referidos parâmetros. Em solos e sedimentos, a matéria orgânica é capaz de indisponibilizar cátions metálicos em solução, reduzindo sua biodisponibilidade e a mobilidade potencial através de lavagem química (lixiviação) (Figura 4).



Fonte: Young *et al.* (1992 *apud* Maia, 2004).

Figura 4. Modelo esquemático de complexação de metais pesados por uma molécula orgânica.

A condutividade elétrica trata da concentração de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^- e HCO_3^- no ambiente. Variações na condutividade elétrica podem promover a formação de distintos complexos iônicos e minerais (Rodrigues-Filho e Maddock 1997), alterando os mecanismos de precipitação, solubilidade e disponibilidade de metais no solo. Os cloretos e carbonatos, por exemplo, possuem forte afinidade com metais, principalmente em solos salinos, onde geralmente predomina o intemperismo físico. Neste sentido, Barrow e Cox (1992 *apud* Yin et al 1996) atentaram também para a importância de íons cloretos na solução do solo, que podem desempenhar papel importante nos processos de adsorção de mercúrio, sobretudo na faixa de pH entre 4,0 e 6,0 unidades.

4.2 | Metais Traços: Aspectos Ambientais e (Eco)toxicológicos

As fontes de metais pesados podem ser geogênicas (i.e., naturais) ou antropogênicas. As fontes antrópicas de contaminação estão usualmente atreladas ao emprego desses elementos na geração de energia, nas indústrias siderúrgicas, metalúrgicas, de produção de fármacos e cosméticos, petroquímicas, atividades de mineração e aplicação de agroquímicos.

As fontes geológicas de contaminação estão frequentemente associadas a processos supergênicos de enriquecimento, ou à presença de depósitos hidrotermais na geoquímica regional (Reimman e Garret, 2005), ou seja, regiões geográficas que sofreram intenso metamorfismo e que contam com a presença de depósitos de sulfetos metálicos, tais como esfarelita (sulfeto

de zinco), calcopirita (sulfeto de cobre), galena (sulfeto de chumbo), cinábrio (sulfeto de mercúrio) e arsenopirita (sulfeto de arsênio). O intemperismo dessas assembleias minerais pode liberar os metais sob formas ionizadas para o ambiente, estimulando sua incorporação pela biota. Rodrigues-Filho *et al.* (2004), ao estudarem os níveis de contaminação mercurial em uma ilha vulcânica (Sulawesi) na Indonésia, relatam a origem multi-fontes de contaminação (i.e., fontes geológicas e fontes antrópicas associadas à mineração), sendo as fontes geogênicas atreladas ao intemperismo de minerais sulfetados presentes na geologia regional.

No Brasil, pesquisas recentes sobre a biogeoquímica do arsênio e suas consequências à saúde humana foram executadas no Quadrilátero Ferrífero (Minas Gerais), Região do Vale do Ribeira (São Paulo) e Amazônia (Matschullat *et al.* 2000; Mello *et al.* 2006; Figueiredo *et al.* 2007; Matschullat *et al.* 2007; Deschamps e Matschullat 2008). A toxicidade deste metaloide está fortemente associada à sua forma química, sendo a espécie trivalente (As^{+3}) mais tóxica que as formas pentavalente (As^{+5}) e metilada (Figueiredo *et al.* 2007; Peakall e Burger 2003; Planer-Friedrich *et al.* 2007; Rabieh *et al.* 2008).

Embora o mercúrio (Hg) não possua função biológica conhecida para nenhum organismo, sua forma orgânica (metilmercúrio – MeHg) é facilmente bioacumulada. A principal via de exposição humana ao MeHg está associada ao consumo de pescado contaminado, com danos irreversíveis ao sistema neurológico (WHO 1990). Alguns autores ainda reportam a existência de fenômenos de bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica aquática, com sérios prejuízos à saúde desses ecossistemas (Castilhos *et al.* 2001; Ohriel *et al.* 2008). Em solos, Burton e Shedd (2006) sugere

que concentrações baixas de MeHg, compondo cerca de 0,5 a 1,5% dos teores totais. No caso da Amazônia, a contaminação decorrente do uso de Hg nos garimpos representa um problema particular, já que o pescado consiste na principal fonte de proteínas para as comunidades ribeirinhas (Castilhos *et al.* 1998).

De modo semelhante ao As, a toxicidade do cromo (Cr) está atrelada ao seu estado de oxidação, sendo a forma hexavalente (Cr^{+6}) carcinogênica e, portanto, mais tóxica que a espécie trivalente (Cr^{+3}) (Katz e Salem 1993). O Cr é um metal não essencial para as plantas e micro-organismos edáficos (Cervantes *et al.* 2001), porém a forma trivalente é considerada essencial para humanos e mamíferos, e sua deficiência pode causar distúrbios ao metabolismo da glicose (Katz e Salem 1993). As principais fontes de poluição estão associadas aos rejeitos de indústrias metalúrgicas, fabricação de fungicidas, manufatura de pigmentos e curtume de couro (Zaso *et al.* 2008).

O cádmio (Cd) é um metal não essencial, carcinogênico, teratogênico e sua forma divalente (Cd^{+2}) é facilmente acumulada pelos rins, com severos danos ao sistema excretor (Peakall e Burger 2003). Na cadeia trófica aquática, Jensen e Bro-Rasmussen (1992 *apud* Peakall e Burger 2003) apontam para a ausência de evidências de fenômenos de biomagnificação, bem como para a escassez de dados com relação ao estudo da toxicidade deste metal em ecossistemas terrestres. As fontes de poluição estão comumente atreladas ao emprego do metal em revestimentos metálicos, pigmentos e fabricação de produtos eletrônicos.

No Brasil, estudos recentes sobre o comportamento biogeoquímico do chumbo (Pb) e seus efeitos à saúde humana foram executados na Região do Vale do Ribeira (São Paulo) (Paoliello *et al.* 2002; Moraes *et al.* 2004). O Pb é um metal neurotóxico, não-essencial e capaz de causar sérios efeitos à ictiofauna, aves, mamíferos e microorganismos (Landmeyer *et al.* 1993). Embora não possua qualquer função biológica para oligoquetas edáficas, alguns autores reportam a elevada capacidade desses animais em acumularem altas concentrações do metal (Suthar and Singh 2008; Carbonell *et al.* 2009; Nahmani *et al.* 2009).

O zinco (Zn) e o cobre (Cu) são considerados micro-nutrientes essenciais e desempenham papel importante no metabolismo de diversos organismos. No entanto, em elevadas concentrações podem causar sérios efeitos adversos ao meio biótico, sobretudo aos vegetais e à macro-fauna edáficas (Peakall e Burger 2003; Lukkari *et al.* 2005). Em oligoquetas terrestres, o Zn desempenha papel importante no crescimento, desenvolvimento e regeneração dos tecidos desses animais, enquanto o cobre participa no transporte de substâncias entre as células e os tecidos (Lukkari *et al.* 2005). As principais fontes de poluição estão relacionadas aos rejeitos de indústrias químicas e metalúrgicas, bem como à aplicação de pesticidas, herbicidas e fertilizantes, os quais comumente contêm elevadas concentrações de sais de Zn e arsenatos de Cu (Gimeno-García *et al.* 1996; Sharma *et al.* 2007).

Para a maioria dos metais traços (e até mesmo para os elementos tóxicos supracitados – elementos relativamente bem estudados), ainda existem lacunas importantes no que se refere ao entendimento dos seus ciclos biogeoquímicos e seus efeitos tóxicos sobre a saúde do ecossistema terrestre. Neste

sentido, estudos integrados entre geoquímica ambiental e ecotoxicologia se tornam extremamente promissores na medida em que não somente servem de base para o estabelecimentos de valores orientadores de qualidade ambiental, mas sobretudo possibilitam/otimizam, de forma mais efetiva, a compreensão dos riscos associados à saúde humana e ambiental.

4.3 | Índices de Poluição

4.3.1 | Índice de Geocumulação (Igeo)

O Índice de Geoacumulação (Igeo) é uma ferramenta de monitoramento criada pelo pesquisador German Müller (Müller, 1979), da Universidade de Heidelberg (Alemanha), e foi inicialmente idealizado para mapear as concentrações de metais pesados ao longo da bacia do Rio Reno. O Igeo consiste em uma escala logarítmica a partir da qual é possível classificar a intensidade da contaminação por metais em sedimentos. Embora, a priori, tenha sido concebido para avaliação da contaminação por metais, o Igeo também pode ser utilizado na avaliação de qualquer outro contaminante de caráter conservativo, i.e., que possua elevado tempo de residência no ambiente (tais como pesticidas organoclorados ou hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de cadeia longa). O cálculo do índice é baseado na concentração do elemento obtido no solo ou sedimento e no respectivo teor médio determinado no folhelho médio (folhelho padrão) (Equação 1; Tabela 2). Um fator de 1,5 é também inserido na equação de forma a atenuar variações naturais da geoquímica regional.

Tabela 2. Concentrações de alguns metais tóxicos no folhelho médio (folhelho padrão) e níveis de base naturais em sedimentos.

Nível de base	Hg (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
Folhelho médio	0,04	120	39	68	23
Média mundial em sedimentos	0,073	95	33	52	19

Fonte: Adaptado de Turekian e Wedepohl (1961) e Jonasson e Boyle, 1979 *apud* Rodrigues-Filho, 1995).

$$\text{IGEO} = \text{Log}_2 \text{Me} / \text{BG} \times 1,5 \quad [1]$$

Onde,

Me: Concentração do metal no solo ou sedimento;

BG: *Background* geoquímico do metal no folhelho médio (folhelho padrão).

A utilização dos valores de *background* obtidos em folhelhos decorre do fato destas rochas serem abundantes, de terem origem sedimentar, apresentarem textura fina e elevado teor de matéria orgânica – i.e., trata-se de uma rocha que reúne atributos que favorecem a fixação de metais. Müller (1979) também recomenda a utilização de *backgrounds* regionais ou locais não-contaminados da área de estudo. No caso do emprego dos folhelhos, Müller (1979) sugere o emprego da concentração obtida na fração fina do solo ou sedimento, uma vez que remetem mais efetivamente às interações com suportes geoquímicos e à textura fina dos folhelhos.

O IGEO é tradicionalmente utilizado por diversos outros autores (Rodrigues-Filho e Maddock, 1997; Cesar *et al.* 2011) e, dessa

forma, os dados consistem em um bom parâmetro de comparação. Cesar *et al.* (2011), ao aplicar o IGEO em uma antiga área de mineração de ouro na porção meridional do estado de Minas Gerais, foi capaz de mapear anomalias geoquímica de mercúrio, zinco e cobre em sedimentos fluviais. Naquele trabalho, a abundância de oxi-hidróxidos de ferro e alumínio parece desempenhar papel importante na retenção desses metais. O índice pode ser agrupado em 7 classes (de 0 a 6), as quais descrevem o incremento do metal em relação ao background e os respectivos graus de poluição (Tabela 3).

Tabela 3. Índice de Geoacumulação (Igeo) de metais pesados nos sedimentos do Rio Reno (Alemanha).

Intensidade da Poluição	Acumulação no Sedimento (Igeo)	Classe IGEO
Muito fortemente poluído	> 5	6
Forte a muito fortemente poluído	> 4 - 5	5
Fortemente poluído	> 3 - 4	4
Moderado a fortemente poluído	> 2 - 3	3
Moderadamente poluído	> 1 - 2	2
Pouco a moderadamente poluído	> 0 - 1	1
Praticamente não poluído	< 0	0

Fonte: Adaptado de Müller (1979).

A Tabela 4 indica valores máximos de classes de IGEO de zinco e cobre para diferentes localidades brasileiras. Ambos elementos são indicadores de poluição por esgoto doméstico, o que justifica a obtenção de mais elevados valores de IGEO para o Rio Piabanha (RJ) (bacia hidrográfica altamente impactada por efluentes domésticos) e o Canal do Cunha (RJ), que compõe a bacia da baía de Guanabara. Descoberto (MG)

e Poconé (MT) são/foram áreas de mineração artesanal de ouro. As anomalias geoquímicas de zinco e cobre, em geral mais baixas e de menor biodisponibilidade, estão associadas ao processo de concentração gravítica, capaz de concentrar assembleias minerais de alta densidade (incluindo sulfetos, óxidos e minerais ferro-magnesianos) que comumente contem altos teores associados de zinco e cobre.

Tabela 4. Comparação entre os valores máximos de classes de índice de geoacumulação (IGEO) para zinco e cobre, obtidos em distintas localidades brasileiras.

Localidade	Fontes Potenciais	Classe IGEO (Zn)	Classe IGEO (Cu)	Autores
Rio Piabanha (RJ)	Esgoto e indústrias	2	3	Cesar <i>et al.</i> (2011a)
Canal do Cunha (RJ)	Esgoto e indústrias	3	4	Cesar <i>et al.</i> (2014a)
Córrego Rico (Descoberto, MG)	Mineração de ouro	1	1	Cesar <i>et al.</i> (2011)
Córrego Bento (Poconé, MT)	Mineração e fontes litogênicas	1	2	Rodrigues-Filho e Maddock (1997)

4.3.2 | Índice Geoquímico de Distribuição Granulométrica (IGDG)

O Índice Geoquímico de Distribuição Granulométrica (IGDG) expressa o percentual da concentração total do metal fixado à fração fina do solo ou sedimento (Equação 2). Valores de IGDG maiores do que 60% indicam que o elemento está preferencialmente fixado na fração fina. Valores entre 40 e 60%

apontam para a ausência de fixação preferencial. Valores de IGDGs abaixo de 40% indicam que o elemento está preferencialmente concentrado na fração grosseira. O IGDG tem sido empregado na avaliação da mobilidade de metais em ecossistemas terrestres, bem como em investigações da biodisponibilidade potencial em sistemas fluviais (Santos *et al.* 2002).

$$\text{IGDG} = C_{(\text{fino})} \times 100 / C_{(\text{fino})} + C_{(\text{grosseira})} \quad [2]$$

Onde,

$C_{(\text{fino})}$ = concentração do elemento na fração fina (0,075 mm);

$C_{(\text{grosseira})}$ = concentração do elemento na fração grosseira (1,7 – 0,075 mm).

A Tabela 5 indica valores de IGDG de mercúrio determinados em diferentes áreas afetadas pela poluição. O mais elevado valor de IGDG indicado (86%) decorre da abundância de matéria orgânica na fração fina desses sedimentos, cuja textura é predominantemente arenosa, fazendo com que o mercúrio esteja preferencialmente complexado pela fração fina do material. No caso de Descoberto (MG) e Paracatu (MG), tratam-se de áreas impactadas por antigas atividades de mineração artesanal e que, sobretudo no caso de Descoberto, contam com elevados teores de mercúrio metálico. Essa forma química do mercúrio é eletronicamente estável e, dessa forma, não precisa se ligar a suportes geoquímicos (principalmente argilominerais, matéria orgânica e oxi-hidróxidos de Fe e Al) para adquirir a estabilidade eletrônica. Portanto, o mercúrio fica “livre” no ambiente, sem apresentar fixação preferencial entre frações granulométricas.

No caso do CENTRES (Centro Tecnológico de Resíduos, em Queimados, RJ), uma área impactada pela disposição inadequada de resíduos de indústrias diversas, os valores de IGDG de metais (majoritariamente entre 40-60%) aponta para a ausência de fixação preferencial entre as frações granulométricas fina e grosseira. Neste caso, apesar da textura arenosa e dos baixos teores de matéria orgânica no solo, possivelmente a ocorrência de argilominerais expansivos no solo (p. ex., vermiculita e illita – com elevada capacidade de troca catiônica) afetou de maneira bastante efetiva os processos de adsorção de íons metálicos.

O caso da Ilha Sulawesi (Indonésia) é extremamente interessante na medida em que a ilha conta com depósitos hidrotermais de cinábrio (HgS) e, simultaneamente, com áreas impactadas por garimpos de ouro utilizando mercúrio metálico (Tabela 2). Naquele caso, não é muito improvável que a ocorrência de assembleias minerais sulfetadas (ainda não intemperizadas) na fração grosseira dos solos esteja favorecendo a fixação do mercúrio para fração grosseira.

Tabela 5. Valores médios de índice geoquímico de distribuição granulométrica (IGDG) para mercúrio, obtidos em sedimentos fluviais para diferentes localidades.

Localidade	IGDG (%)	Autores
Sedimentos do Rio Piabanha (RJ)	86	Cesar et al. (2011a)
Solos de Descoberto (MG)	35	Cesar et al. (2011)
Solos de North Sulawesi (Indonésia)	40	Adaptado de Rodrigues-Filho et al. (2004)
Solos de Paracatu (MG)	72	Senderowitz e Cesar (2011)
Solos do CENTRES (RJ)	40-60	Cesar et al. (2013b)

4.4 | Extrações: Sequencial e Seletiva

Em pedologia, o fracionamento geoquímico de metais é tradicionalmente realizado através de extrações seletivas. Neste sentido, extrações utilizando soluções salinas ($MgCl_2$, KCl , dentro outros), ácidos fracos (p. ex. ácido acético) ou ácidos fortes diluídos (p. ex. HCl 0.05M) são amplamente conhecidas na literatura (Rodrigues-Filho e Maddock, 1997; Gleyzes *et al.* 2002, Amir *et al.* 2005; Cesar *et al.* 2011).

Durante as últimas décadas, sobretudo sob influência das escolas canadense e alemã de geoquímica ambiental, pesquisadores brasileiros têm empregado métodos de extração sequencial para avaliação da biodisponibilidade de metais. Esses métodos consistem em extrações sucessivas de uma mesma amostra, utilizando diferentes extratores (Gleyzes *et al.* 2002). Um método pioneiro de extração sequencial de metais, inicialmente idealizado para identificação de frações geoquímicas de distintas mobilidades, foi proposto por Tessier *et al.* (1979). Boa parte dos métodos de extração sequencial atualmente propostos são adaptações deste método.

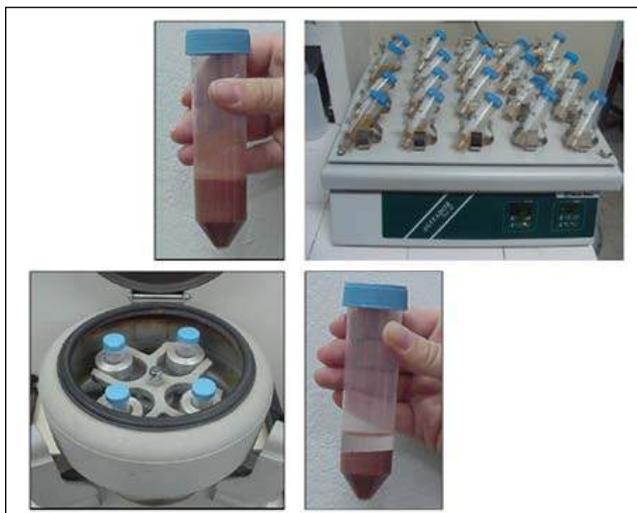
Tessier *et al.* (1979) propuseram o emprego de cinco diferentes extratores e a identificação de cinco fases geoquímicas: (i) solúvel (extraída com uma solução salina); (ii) trocável ou adsorvida (extraída com o emprego de um ácido fraco); (iii) ligada à matéria orgânica (extraída com um oxidante forte); (iv) ligada aos óxi-hidróxidos de Fe, Al e Mn (extraída com reagente redutor); e (v) residual (inerente à composição geoquímica e cristalografia do grão). As primeiras frações extraídas correspondem àquelas de maior mobilidade e biodisponibilidade, enquanto a fração residual consiste na fração menos biodisponível.

Sob o viés da ecotoxicologia, os métodos de extração sequencial adquirem considerável relevância. De acordo com a biologia do organismo e das vias de exposição ao contaminante, é possível associar o aumento das concentrações de frações geoquímicas específicas com o incremento da toxicidade. No caso dos solos, por exemplo, as frações solúvel, trocável e ligada à matéria orgânica possuem considerável relevância ao se analisar o risco ecológico associado à fauna de oligoquetas edáficas, considerando que as principais vias de exposição desses organismos são epiderme e a ingestão (Vijver *et al.* 2003).

4.5 | Ensaio de Batelada

Os ensaios de batelada consistem na extração líquida de uma amostra sólida (neste caso, solos deformados) durante períodos variados de tempo, possibilitando a obtenção de coeficientes de partição sólido:líquido (razão entre o teor do metal no solo pela concentração determinada no sobrenadante) para os tempos testados (Figura 5). Em geral, as extrações são efetuadas com água deionizada em distintas faixas de pH, de modo a investigar a influência deste parâmetro sobre a lixiviação potencial de metais.

Estes ensaios permitem avaliação da capacidade total de adsorção de metais (e outros contaminantes) frente à atuação simultânea de todos os suportes geoquímicos presentes no solo (matéria orgânica, argilominerais, oxi-hidróxidos de ferro e alumínio, etc.), possibilitando inferências acerca dos mecanismos de mobilidade e possíveis adsorções preferenciais de metais. As isotermas de adsorção e as equações de Freundlich e de Langmuir são usualmente empregadas na modelagem da mobilidade potencial de metais.



Fonte: Demuelenaere (2010).

Figura 5. Extração líquida seguida de centrifugação do sobrenadante em ensaios de batelada com solo.

4.6 | Ensaios de Coluna

O ensaio de coluna é um procedimento que permite entender os mecanismos de transporte e de interação de uma solução com o solo, sob condições controladas de laboratório. Com este ensaio, pode-se estudar o fluxo do fluido e de seus componentes e suas interações com o meio ambiente, com ênfase no detalhamento do comportamento do contaminante em subsuperfície (Figura 6). Tais ensaios são usualmente empregados por pedólogos e geólogos/geotécnicos ambientais, além de serem consagrados pela pedologia e engenharia ambiental.

São diversos os fenômenos que controlam o transporte de contaminantes em meios porosos, nos quais o contaminante considerado é a massa de alguma substância dissolvida, movendo-se no meio fluido, ou com este (água) nos vazios do meio poroso (solo) seja ele saturado ou não (Nobre, 1987).

O movimento de poluentes não depende apenas do fluxo do fluido no qual essas substâncias estão dissolvidas, mas sim de mecanismos que, por sua vez, dependem de processos físicos, químicos e biológicos. Os processos físicos compreendem os fenômenos da advecção e dispersão hidrodinâmica, enquanto os processos químicos englobam as diversas reações químicas que podem ocorrer entre a solução contaminada e o solo. A Tabela 6 expressa os processos físicos e químicos na migração de contaminantes

Tabela 6. Processos físicos e químicos na migração de poluentes (adaptado de Nobre, 1987).

Processos Físicos	Processos Químicos
Advecção	Adsorção-Dessorção
Dispersão ou Dispersão Hidrodinâmica	Precipitação-Dissolução
- Dispersão Mecânica	Atividade Biológica
- Dispersão Molecular	Oxido-Redução
	Formação de complexos e quelação

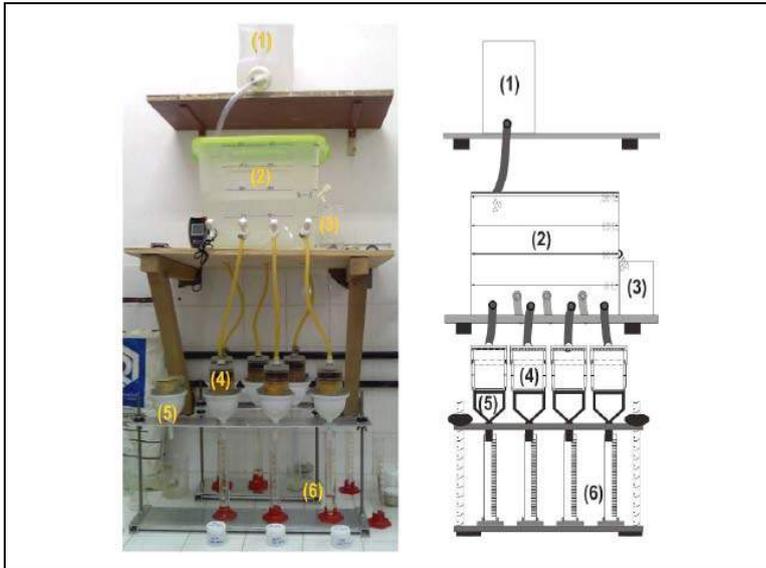
Fonte: (adaptado de Nobre, 1987).

O transporte de poluentes no solo pode ser influenciado por alterações em três variáveis: o solo, o poluente e o meio ambiente. As alterações em uma dessas variáveis ocasionam modificações nas outras. As principais alterações, segundo Elbachá (1989), são:

- (i) variáveis do solo - tipo de solo, mineralogia, distribuição granulométrica, estrutura do solo, capacidade de troca iônica, tipo de íons adsorvidos e tipo e teor de matéria orgânica presente;
- (ii) variáveis do poluente - tipo de poluente, concentração do poluente e outras substâncias presentes, densidade, viscosidade, pH, polaridade, solubilidade, demanda bioquímica de oxigênio e demanda química de oxigênio;
- (iii) variáveis do ambiente - condições hidrogeológicas, condições aeróbicas/anaeróbicas, temperatura, micro-organismos presentes, potencial de óxido-redução

O transporte e a retenção de contaminantes no solo podem ser estudados pela percolação de soluções através de colunas com solos (ensaios de coluna de percolação), que simulam as condições de fluxo no meio poroso e as interações do contaminante com o meio, obtendo a concentração do contaminante na fração sólida da coluna (solo) e na fração líquida (lixiviado).

Nesse ensaio, determina-se a retenção do contaminante pelo solo e, por conseguinte, a diminuição da velocidade da frente de contaminação. Este fenômeno é chamado de retardamento da frente de contaminação, e é quantificado pelo fator de retardamento (R). A taxa de retenção de substâncias pelo solo vai diminuindo com o tempo, até tornar-se nula, atingindo, assim, sua capacidade de retenção. A área atingida pelo contaminante, bem como a maneira pela qual ele se desloca no subsolo, caracteriza a chamada "pluma de contaminação".



Fonte: Alamino (2010).

Figura 6. Modelo esquemático do ensaio de lixiviação em coluna executado por Alamino (2010). (1) reservatório superior, (2) reservatório inferior, (3) vazadouro, (4) colunas de solo (5) funis e (6) provetas para recolhimento do percolado.

5. | ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE, ATRIBUTOS GEOQUÍMICOS E INTERFACE COM A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA

No Brasil, a execução de bioensaios para avaliação da qualidade de águas é uma exigência da legislação (Resolução 357 do CONAMA, 2005), demonstrando uma clara preocupação em associar aspectos hidrogeoquímicos e ecotoxicológicos. O Brasil conta com alguns grupos consolidados na realização de bioensaios com organismos aquáticos, o que facilita o atendimento da legislação por parte das empresas, principalmente.

No Brasil, os valores orientadores para qualidade de solos estão descritos na Resolução 420 do CONAMA de 2009. O documento é baseado nos dados propostos por CETESB (2005), para qualidade de solos do Estado de São Paulo. A referida resolução sugere que o “valor de referência” deve ser estabelecido com base no *background* pedogeoquímico de cada estado da federação, devido a características inerentes à geologia e à pedologia regional. Dessa forma, a cartografia pedogeoquímica do Brasil se torna questão de prioridade para o país e, sob essa perspectiva, a concepção de “mapeamento geoquímico de baixa densidade”, proposta da geologia médica, adquire grande relevância. Os valores de “prevenção” e “intervenção”, propostos pela Resolução CONAMA 420, estão baseadas em avaliação de risco ecológico e à saúde humana, respectivamente.

A Resolução CONAMA 420 não exige o emprego de bioensaios com organismos de solo na avaliação do grau de poluição, mas deixa implícita, sobretudo através de seus valores de “prevenção”, a importância e relevância destes

ensaios. De fato, existe uma carência muito grande de grupos brasileiros consolidados capazes de executar bioensaios com organismos de fauna de solo e, por conseguinte, a legislação ainda não pode requerer a execução destes tipos de ensaios de forma rotineira. É importante destacar que a ecotoxicologia (e em especial, a ecotoxicologia de solos) é recente no Brasil, sendo a adequação de procedimentos às condições tropicais ainda um grande desafio.

A Resolução 454 do CONAMA (2012) estabelece as diretrizes para a disposição de sedimentos de dragagem no Brasil, incluindo a sua disposição terrestre, i.e., em solos. Trata-se do único documento deliberando sobre a qualidade de sedimentos no Brasil. Esta resolução está baseada em ensaios de ecotoxicidade e permite a classificação do sedimento com base na probabilidade de baixa ou alta ocorrência de efeitos adversos à biota (i.e., risco ecológico). Esta resolução é baseada na legislação canadense, para dragagem de sedimentos portuários (Canadian Council, 2001). Dessa forma, os dados foram gerados para materiais e organismos de clima temperados e, sendo assim, não refletem as especificidades dos ecossistemas tropicais.

A orientação de Canadian Council (2001) para teores de metais pesados em sedimentos é baseada na toxicidade destes contaminantes para a biota bentônica. De acordo com Canadian Council (2001), em decorrência da complexa composição química e mineralógica dos sedimentos fluviais e das suas inter-relações com o substrato aquoso, o mais prudente para efeitos de diagnóstico ambiental é a associação de aspectos sedimentológicos/geoquímicos e bioindicadores aquáticos. Sendo assim, as concentrações de referência de Canadian Council (2001) e de CONAMA 454/2012 foram

determinadas de acordo com ensaios ecotoxicológicos em sedimentos de água doce enriquecidos de substâncias-teste, utilizando organismos bentônicos.

Um aspecto importante é que quando se trata de ações envolvendo sedimentos (p.ex., dragagens) os critérios a serem utilizados são os da Resolução CONAMA 454/2012 e no caso dos solos, os critérios da Resolução CONAMA 420/2009. Portanto, no caso da disposição continental de materiais dragados - seja da atividade portuária e outras na zona costeira, seja de projetos de saneamento ambiental envolvendo a limpeza de canais e outros -, devem ser utilizados os critérios da Resolução 420. A razão disso é que a disposição terrestre envolve possíveis misturas solo: sedimento sobre o continente (os quais deveriam ser tratados como “solos construídos”, mesmo no caso da disposição ficar confinada). Com o tempo, podemos considerar a evolução destes materiais como seguindo uma tendência de transformações pedológicas. Neste sentido, a execução de bioensaios (utilizando organismos edáficos) com misturas solo: sedimento é de fundamental importância para a determinação de doses potencialmente tóxicas ao ecossistema terrestre.

Este cenário é cada vez mais forte: a necessidade de recuperação de corpos aquosos degradados, o custo do transporte na composição dos custos globais de dragagem e as críticas da disposição de dragagem em áreas distantes não contaminadas de corpos hídricos, levam à tendência da disposição em áreas continentais próximas, com a possibilidade de utilização das misturas solo: dragagem na retificação de terreno e outras ações.

6. | ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA: MÉTODOS E APLICAÇÕES

A maior parte dos estudos geoambientais em solos está tradicionalmente baseada em análises químicas totais, extrações sequencias e/ou seletivas e especiação geoquímica. Contudo, embora extremamente importantes, essas abordagens analíticas não levam em consideração a ecotoxicidade decorrente da atuação simultânea de distintos agentes tóxicos no ambiente (sinergia de contaminantes), bem como seus efeitos ecológicos sobre a fauna terrestre ou aquática (Selivanovskaya e Latypova 2003). De fato, estudos ambientais calcados no emprego de ensaios ecotoxicológicos como ferramenta na avaliação do grau de poluição começaram a ser realizados com maior frequência a partir da década de 90 (Nepper, 2000) e, sobretudo no caso dos solos, ainda são escassos.

A abordagem ecotoxicológica, focada na interação biota-solo, pode complementar os resultados da geoquímica analítica através do monitoramento de efeitos letais e subletais em organismos-teste, tais como mudanças morfológicas, comportamentais, fisiológicas, bioquímicas, citogenéticas e de fertilidade (Straalen *et al.* 2005), fornecendo informações importantes acerca da biodisponibilidade potencial de contaminantes e, até mesmo, da amplificação de efeitos ao longo da cadeia trófica. Tais dados são de fundamental importância à definição de quaisquer ações de remediação ou de planejamento ambiental e, dessa forma, poderão fornecer suporte fundamental a futuras avaliações de risco ecológico, ao estabelecimento futuro de indicadores de sustentabilidade e à tomada de decisão em programas de saúde ambiental, humana e controle da poluição.

Nesta seção, serão apresentadas, de maneira breve, alguns métodos, perspectivas metodológicas futuras e desafios que envolvem o uso de ferramentas ecotoxicológicas, com especial atenção às necessidades das regiões e solos tropicais. O processo de avaliação de risco ambiental, conduzida sob os pressupostos da avaliação de risco ecológico, norteará as temáticas a serem discutidas. Neste contexto, serão também fornecidas informações acerca da metodologia de avaliação de risco ecológico proposta por USEPA (1998).

6.1 | Avaliação de Risco Ecológico

A metodologia de avaliação de risco à saúde humana, proposta pela US EPA (1989) e adaptada para avaliação do risco ecológico (US EPA, 1998), consiste na geração de índices ou quantificações do risco com base em modelos biológicos e estatísticos. Desta forma, a avaliação de risco, em geral, fornece estimativas numéricas da segurança do ambiente em termos da ocorrência de eventuais efeitos adversos à saúde humana ou à biota. Estas abordagens analíticas vão além dos padrões ou valores de referência de qualidade ambiental, visto que estes valores genéricos não consideram as condições específicas do local, tais como os tipos de pessoas (idade, uso da terra, peso, hábitos alimentares, etc.) e a diversidade de receptores ecológicos. Além disso, esses padrões de qualidade ambiental nem sempre estão disponíveis para todos os contaminantes de interesse.

Essas metodologias de avaliação de risco ecológico e à saúde humana estão baseadas nos princípios de toxicologia ambiental, no conhecimento das propriedades físico-químicas dos agentes tóxicos e no seu comportamento no ambiente,

além de extensamente utilizada e reconhecida por agências reguladoras e pela comunidade científica. Os métodos e procedimentos têm estado disponíveis há muitos anos, sobretudo na Europa e Estados Unidos. Os resultados de uma avaliação de risco são a identificação dos compostos/elementos químicos de interesse, zoneamento do risco e a delimitação de áreas críticas com risco potencial à saúde humana e ambiental. Estas informações são de suma importância à tomada de decisão em programas de saúde pública e de gerenciamento dos recursos naturais, especialmente quando existem várias alternativas de remediação e quando os recursos para redução do risco são limitados.

A avaliação de risco ecológico consiste em um processo lógico para a avaliação da probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à saúde dos ecossistemas terrestres e aquáticos, incluindo a flora, fauna ou qualquer outro receptor ecológico (US EPA, 1998). Os fatores de estresse ambiental podem estar associados a atividades antropogênicas ou naturais, tais como contaminação, degradação física (erosão, assoreamento, etc.), introdução de espécies não-nativas, ou catástrofes naturais. A avaliação de risco ecológico, proposta pela US EPA (1998), engloba basicamente as etapas demonstradas na Figura 7, as quais serão resumidamente descritas a seguir:

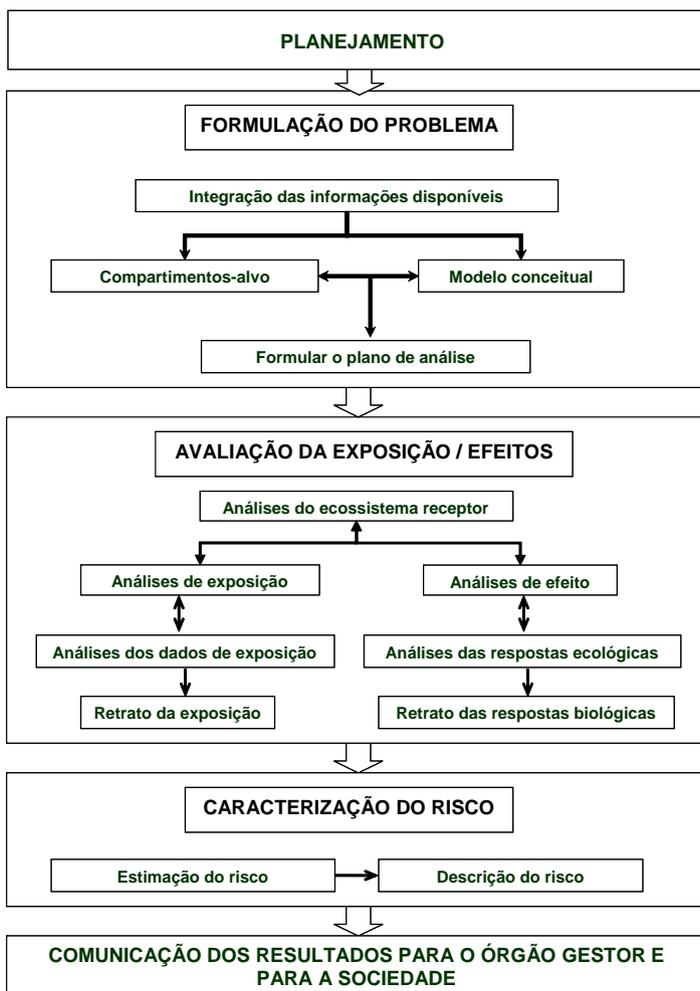
- 1) *Formulação do problema*: Esta etapa contempla definição dos agentes tóxicos de interesse (em geral, substâncias/elementos de maior toxicidade), os receptores ecológicos e as vias de exposição associadas aos diferentes organismos. Outro aspecto importante é a definição de componentes de alta relevância ecológica, tais como habitats raros e extremamente sensíveis a mudanças

ambientais. A integração destes atributos definirá o planejamento e o escopo que estabelece os objetivos e foco da análise, cujos resultados básicos serão: a seleção dos objetivos da avaliação - endpoints (atributos dos ecossistemas a serem protegidos), a elaboração do modelo conceitual (construção dos meios hipotéticos através dos quais as atividades humanas induzem efeitos nos endpoints) e o plano de análises (incluindo dados, parâmetros e métodos necessários para a condução da fase de análise);

2) *Avaliação da exposição*: Nesta etapa é realizada a estimativa da taxa de incorporação dos contaminantes de interesse pelos organismos. A definição dessas taxas depende diretamente da concentração dos agentes tóxicos (no ar, água, solo, sedimento, rocha), das vias de exposição consideradas (taxas de ingestão, inalação, hábitos alimentares, biomassa, contato dérmico) e do comportamento biogeoquímico dessas substâncias/elementos no ambiente. Essas taxas são frequentemente estimadas através da realização de bioensaios, utilizando organismos-teste de interesse, ou de revisão bibliográfica detalhada. É interesse ressaltar o enfoque sistêmico desta abordagem, uma vez que a preocupação é ao nível de populações que compõem o ecossistema, enquanto na avaliação de risco à saúde humana, o enfoque recai sobre o indivíduo;

3) *Avaliação da toxicidade*: Nesta etapa determina-se a dose ou concentração aceitável para receptores específicos que podem estar expostos nas condições atuais (antes da implementação do empreendimento) sem risco ou com um risco mínimo de desenvolvimento de efeitos adversos;

4) *Caracterização do risco*: Nesta etapa comparam-se os resultados da avaliação da exposição com os da avaliação da toxicidade e determina-se o potencial das substâncias químicas provenientes do local de causar risco à saúde dos receptores ecológicos. O risco é determinado pela razão entre a exposição específica do local e o nível de exposição aceitável. Se essa razão, chamada de quociente de perigo (ou razão de exposição), for menor do que uma unidade, não há risco. Por outro lado, se o quociente de perigo for maior do que uma unidade, há uma possível indicação de risco inaceitável. E, neste caso, os resultados devem ser reavaliados, de acordo com o grau de conservadorismo aplicado na avaliação e na magnitude do quociente de perigo.

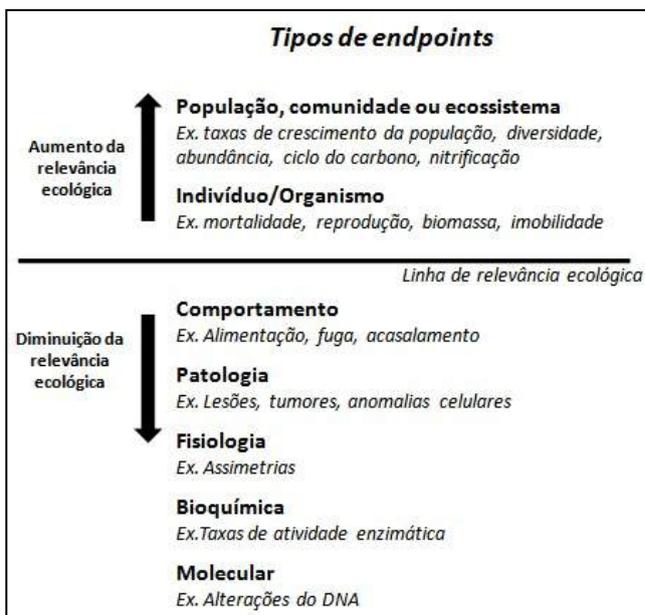


Fonte: Rodrigues (2006) adaptado de US EPA (1998).

Figura 7. Modelo de avaliação de risco ecológico proposto pela Agência Nacional de Proteção Ambiental Americana.

6.2 | Bioensaios como Ferramenta de Monitoramento

Durante as últimas décadas, vem crescendo o interesse pelo uso de bioindicadores (biomonitoramentos e/ou bioensaios) na avaliação do potencial tóxico de substâncias e/ou elementos químicos presentes em materiais geológicos, sobretudo metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo (Svendsen e Weeks, 1996; Peredney and Williams, 2000; Fountain and Hopkin *et al.* 2004; Chelinho *et al.* 2011; Van-Gestel *et al.* 2011). Para avaliar de maneira sistemática os efeitos adversos de contaminantes em ecossistemas terrestres, são utilizados bioensaios, que se baseiam na análise dos efeitos adversos provocados a bioindicadores expostos à contaminação em experimentos controlados de laboratório (Lanno *et al.* 2003). A avaliação da toxicidade e da biodisponibilidade é geralmente realizada através da observação de efeitos letais e subletais ("*endpoints*"), tais como mudanças morfológicas, comportamentais, fisiológicas, citogenéticas e de fertilidade (Figura 8).



Fonte: Adaptado de McLaughlin *et al.* (2010).

Figura 8. Tipos de *endpoints* toxicológicos e seus limiares de relevância ecológica.

Ensaio ecotoxicológicos estão comumente associados ao entendimento das inter-relações entre concentrações, efeitos tóxicos e possíveis alterações que influenciam a qualidade ambiental dos ecossistemas. Diversos tipos de organismo (algas, vertebrados e invertebrados aquáticos e terrestres) são utilizados na avaliação da toxicidade, bem como no estudo da distribuição espacial e temporal de contaminantes em sistemas fluviais, marinhos e solos (Zagatto e Bertoletti, 2006). No caso dos solos, minhocas (*Eisenia andrei*, *foetida*), colêmbolos (*Folsomia candida*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*; *albidus*), ácaros predadores (*Hypoaspis aculeifer*) e nematóides

(*Caenorhabditis elegans*) têm sido amplamente utilizados como organismos-teste em bioensaios (Crouau *et al.* 1999; Peredney and Williams, 2000; Fountain and Hopkin *et al.* 2004; Natal-da-Luz *et al.* 2008; Chelinho *et al.* 2011; Van-Gestel *et al.* 2011; Cesar *et al.* 2014a; Cesar *et al.* 2014b; Cesar *et al.* 2014c). Organismos aquáticos, tais como microcrustáceos (*Daphnia similis*; *magna*, *Ceriodaphnia dubia*), algas clorofíceas (*Pseudokirchineriella subcaptata*), também têm sido usados em bioensaios, sobretudo na simulação de cenários de risco onde contaminantes possam ser lixiviados dos solos a partir da ação intempérica das águas pluviais (Maxam *et al.* 2000; Fjällborg *et al.* 2005; Cesar *et al.* 2010), contaminando, assim, os sistemas aquáticos vizinhos.

6.2.1 | Bioensaios em ecotoxicologia de solos: alguns desafios

Em termos teóricos, um dos maiores desafios e tendências em ecotoxicologia de solos diz respeito à inserção de uma perspectiva mais ecológica à ecotoxicologia de solos. De fato, Filser (2008), em seu paper intitulado "*Ecological theory meets soil ecotoxicology: a challenge and chance*", alerta para a necessidade de desenvolvimento de métodos que busquem mensurar os danos ao nível do ecossistema do solo para, dessa forma, fornecer um suporte mais sólido à modelagem dos efeitos ecológicos decorrentes da exposição. Neste sentido, os ensaios ao nível de microcosmos e mesocosmos emergem como ferramentas promissoras de monitoramento em ecotoxicologia de solos. Os micro e mesocosmos consistem em ensaios que visam à modelagem do ecossistema terrestre. Tratam-se de ensaios de semicampo e que contam com o emprego de distintas espécies-teste. A principal diferença entre

estes ensaios é que o microcosmos não permite a troca de indivíduos e de materiais abióticos com o ambiente externo, enquanto o mesocosmos possibilita a troca de materiais abióticos (porém, com a limitação da inserção de uma barreira física).

Em termos de bioensaios, uma tendência relativamente recente em ecotoxicologia de solos diz respeito à execução de ensaios que visam a modelar, ainda sob um viés mais ecológico, o comportamento dos efeitos de contaminantes frente ao ecossistema do solo: os TMEs (*Terrestrial Model Ecosystems* - i.e., modelos de ecossistemas terrestres) (Kuperman *et al.* 2009). Neste sentido, uma gama variada de diferentes organismos-teste é exposta a colunas contaminadas de solo inderformado, em gradientes de concentração e sob condições controladas de laboratório. Ao final do ensaio, além de alguns dos tradicionais *endpoints* toxicológicos (Figura 8), é possível avaliar os efeitos sobre a abundância e diversidade das espécies-teste.

Outro grande desafio para a ecotoxicologia de solos consiste na adequação de procedimentos laboratoriais (i.e. bioensaios) às condições tropicais. Neste sentido, a maior parte das espécies-teste terrestres atualmente empregadas foram padronizadas para atender às demandas de regiões temperadas, fato que ainda limita a emissão de prognósticos mais consolidados acerca do risco ecológico em solos tropicais. Recentemente, alguns autores tem tentado preencher esta lacuna, detalhando o ciclo de vida e a sensibilidade de espécies-teste tropicais a alguns contaminantes, sobretudo os orgânicos (Buch, 2010). No entanto, muito ainda precisa ser realizado.

Além disso, a definição da composição de um solo artificial tropical (SAT) também se traduz em um desafio à ecotoxicologia de solos tropicais. O SAT deve compreender não somente características que atendam às demandas básicas da biologia do organismo-teste, mas também às características físicas, químicas e mineralógicas de solos tropicais, dado que tais características desempenham papel fundamental na biodisponibilidade de contaminantes e, conseqüentemente, na sua ecotoxicidade potencial. Neste contexto, a contribuição teórica de geoquímicos de solo torna-se de fundamental importância.

Atualmente, o SAT utilizado é basicamente composto por 70% de areia de quartzo ("esqueleto" do solo), 20% de caulim (para simulação da fração argila) e 10% de turfa ou casca de coco (para simulação da matéria orgânica) (ISO, 2008). Sabe-se que, por exemplo, a geoquímica da matéria orgânica tem influência na biodisponibilidade de metais e, dessa forma, diferenças nas origens das turfas podem causar discordâncias nos resultados analíticos. Além disso, a maior parte dos solos tropicais possuem baixos teores de matéria orgânica (a exemplo dos latossolos, com teores geralmente abaixo de 3%). Por fim, a definição de uma composição mineralógica padrão para o caulim, bem como a inclusão de elementos capazes de representar os oxi-hidróxidos de ferro e alumínio (suportes geoquímicos abundantes em solos tropicais e de suma importância na retenção e fixação de metais) ainda consistem em lacunas a serem preenchidas.

6.3 | Bioensaios com Oligoquetas (*Eisenia andrei*)

6.3.1 | Cultivos dos Organismos

Os procedimentos apresentados aqui estão baseados nas recomendações de Cesar (2014) e Cesar (2009). Dessa forma, os autores supracitados recomendam que os animais devem ser criados em caixas plásticas contendo uma mistura de musgo *sphagnum* e esterco de cavalo (previamente congelado para desfaunagem) (Figura 9). Antes de os organismos serem introduzidos no substrato, o pH do substrato é ajustado até a faixa de 6-7 unidades por adição de carbonato de cálcio (CaCO_3). O substrato deve ser renovado e hidratado (com água destilada) a cada dois meses. Aveia moída deve ser cozida em micro-ondas e servida como alimento uma vez por semana. Os organismos utilizados nos ensaios devem estar sexualmente maduros (com clitelo totalmente desenvolvido) e com peso entre 250 e 600 mg.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 9. Estante de cultivo de *Eisenia andrei* no Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia de Solos da Universidade de Coimbra (Portugal).

6.3.2 | Bioensaio Agudo

O procedimento laboratorial para o bioensaio agudo com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei* (Figura 10) está baseado nas recomendações de ASTM (2004). Sendo assim, são utilizadas 600g de mistura-teste e de solo artificial para o controle (massa suficiente para a execução do ensaio em quadruplicata), sendo a umidade ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água. O monitoramento da umidade é efetuado por gravimetria (24 horas em estufa a 105°C). A constituição do solo artificial segue as recomendações de OECD (1984) (70% de areia, 20% de caulim e 10% do musgo *Sphagnum*), e deve funcionar como grupo controle do ensaio.



Fonte: Cesar (2009).

Figura 10. Aspecto de oligoqueta adulta da espécie *Eisenia andrei* (à esquerda); bioensaio agudo com oligoquetas (à direita) no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.

Antes de introduzir o total de 10 oligoquetas adultos de pesos semelhantes (i.e., animais com clitelo bem desenvolvido e peso variando entre 250 e 600mg; Figura 10) em cada réplica, os organismos são deixados sobre papel de filtro umedecido com água destilada em um recipiente de polietileno, durante 24

horas, para o purgamento do conteúdo intestinal. Durante os 14 dias de exposição, os oligoquetas são mantidos sem alimentação, à temperatura de 22°C e com iluminação constante (ASMT, 2004). Ao final do ensaio, os oligoquetas sobreviventes são novamente deixados para o esvaziamento do conteúdo intestinal por 24 horas (conforme o procedimento anteriormente descrito), e posteriormente enviados para a análise química.

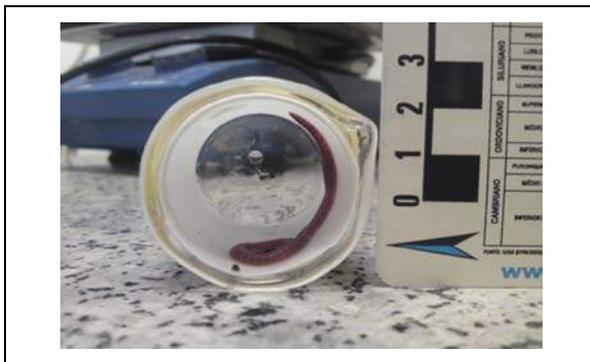
A biodisponibilidade potencial de metais para os oligoquetas sobreviventes é avaliada através do cálculo dos fatores de bioconcentração (FBCs), expresso pela razão entre a concentração total do metal no organismo e o teor total do metal no solo (Liu *et al.*, 2005).

6.3.3 | Bioensaio Agudo Utilizando Papel de Contato

O procedimento apresentado para este ensaio está em OECD (1984). O ensaio consiste na exposição de oligoquetas adultos a papéis de filtro umedecidos com uma solução-teste, a fim de avaliar a biodisponibilidade potencial através de contato dérmico. O preparo da solução-teste (elutriato) consiste na extração da mistura-teste (solo: lodo ou solo: sedimento) com água destilada, na proporção 1:4 (solo:água), por 2 horas.

O ensaio é realizado com 10 réplicas. Cada réplica contém um organismo (Figura 11). Antes de serem usados nos ensaios, os animais devem ser deixados sobre papel absorvente contendo água destilada, por 2 horas, para o purgamento do conteúdo intestinal. O experimento é realizado na ausência de luz e à temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. O papel de filtro ($5 \times 10 \text{ cm}^2$) foi umedecido com 2mL de substância-teste, enquanto ao controle adiciona-se somente água destilada. Um pedaço deste papel

deve ser acomodado às paredes de um béquer de 50mL, e em seguida os organismos são introduzidos. De modo a evitar o escapamento dos animais, os béqueres são vedados com plástico fino contendo pequenos orifícios. Após 72 horas de exposição, verifica-se o número de oligoquetas sobreviventes.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 11. Aspecto do bioensaio agudo com papel de contato, utilizando oligoquetas (*Eisenia andrei*) no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.

6.3.4 Teste de Fuga ou Ensaio de Comportamento

O procedimento apresentado para o ensaio de comportamento ou fuga (“*avoidance test*”) está baseado nas recomendações de ISO (2008). Para a execução do ensaio, são utilizados 600g de solo-teste e de solo não contaminado como controle, com umidade ajustada para 40-60% da capacidade máxima de retenção de água. Recipientes plásticos (20cm de comprimento, 12cm de altura, e 5cm largura) são divididos em duas seções de mesma área, com o auxílio de um cartão plástico (Figura 12). Uma das seções é preenchida com solo-teste, e a outra com a mesma quantidade de solo controle

(solo natural não contaminado). Os experimentos são conduzidos com cinco réplicas.

Após a remoção do cartão plástico, 10 indivíduos adultos de peso semelhante são colocados sobre a linha que divide os solos (Figura 12). Antes de serem introduzidos nos solos, os oligoquetas são condicionados por 24 horas em solo artificial. Durante as 48 horas de exposição, os oligoquetas são mantidos sob temperatura de 22°C em incubadora, com ciclos de luz e escuridão de 16:8h. Ao final do ensaio, verifica-se a porcentagem de oligoquetas presentes no solo-teste e no solo controle. Quando menos de 20% dos organismos são encontrados no solo-teste, considera-se que o solo possui “função de habitat limitada” (ISO, 2008). Para validação do ensaio, recomenda-se a realização de um dual-control test, i.e., ambas seções preenchidas com solo-controle e verificação da homogeneidade de distribuição dos organismos via análise utilizando o Fisher Exact Test (Two Tailed).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 12. Aspecto do teste de fuga com *Eisenia andrei*: recipientes-teste com o divisor plástico (a esquerda); e recipiente com minhocas recém-introduzidas (a direita) (Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM).

6.3.5 | Ensaio de Reprodução

O procedimento apresentado para o ensaio de reprodução com *Eisenia andrei* está baseado em ISO (1998). A priori, a umidade dos solos (misturas-teste de solo: sedimento) deve ser ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água. O ensaio é conduzido em recipientes cilíndricos contendo 500g de solo-teste (equivalente em peso seco) (Figura 13) e 10 oligoquetas adultos de peso semelhante por réplica (4), conforme ISO (1998). Os oligoquetas são condicionados em solo artificial por 24 horas antes de serem usados nos ensaios. O experimento é executado a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclos de luz: escuridão (16:8h) (Figura 13). No início do ensaio, 15 g de esterco de cavalo finamente moído devem ser servidos como alimento. Uma vez por semana os recipientes-teste são abertos (para aerar os sistemas), momento em que mais comida é adicionada (quando necessário) e a umidade ajustada (por diferença de peso e subsequente adição de água destilada).

Após 28 dias de exposição, os animais adultos são manualmente coletados e pesados. Os solos-teste são incubados por mais 28 dias para permitir a eclosão dos casulos (Figura 13). Após essa etapa, os organismos jovens são contados através de aquecimento da base do recipiente-teste, utilizando banho-maria a 60°C .



Fonte: Cesar (2013).

Figura 13. Aspecto do ensaio de reprodução com *Eisenia andrei* (a esquerda) e de incubadora utilizada para ensaios (a direita) na Universidade de Coimbra (Portugal).

6.3.6 | Ensaio de Bioacumulação

O procedimento apresentado para este experimento está baseado nas recomendações de ASTM (2004). O ensaio é composto de duas etapas: bioacumulação e depuração, ambos com duração de 28 dias. O ensaio é realizado com 3600 g de solo-teste e 90 organismos adultos de peso semelhante (para garantir populações mais homogêneas) por réplica (3) (total de 270 indivíduos) (Figura 14). A umidade das amostras é ajustada para 40-60% da capacidade máxima de retenção de

água do solo. Os recipientes-testes são vedados com um plástico fino, contendo pequenos orifícios, de modo a impedir a fuga dos animais. Durante a etapa de bioacumulação, 10 organismos são retirados de cada réplica em dias previamente definidos (4^o, 7^o, 14^o, 21^o, 28^o dias), e enviados para a determinação de metais pesados (vide item 2.3.1). Os fatores de bioconcentração (FBC) são calculados com base na razão entre o teor do contaminante em tecido animal pela concentração no solo.

Após a etapa de bioacumulação, os organismos restantes são transferidos para um solo artificial não contaminado, onde permanecem por 28 dias (fase de depuração). Novamente, 10 organismos são retirados de cada réplica em dias previamente estabelecidos (7^o, 14^o, 21^o, 28^o dias) e enviados para a quantificação dos teores de metais pesados, de forma a mensurar o potencial de eliminação desses elementos pelos organismos.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 14. Aspecto do ensaio de bioacumulação de metais com *Eisenia andrei* no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.

6.3.7 | Estudo de Caso

CESAR, R.G., COLONESE, J., SILVA, M.B., BERTOLINO, L.C., CASTILHOS, Z.C., EGLER, S.G., POLIVANOV, H., BIDONE, E.D., PÉREZ, D.V. 2010. Avaliação da ecotoxicidade de mercúrio em três tipos de solos utilizando ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. *Geochimica Brasiliensis*, v. 24, p. 3-12.

No presente estudo, os autores investigaram (além de outros atributos) a influência potencial das propriedades de três classes de solo (latossolo amarelo, latossolo vermelho e chernossolo) sobre a ecotoxicidade aguda associada à contaminação por mercúrio. Para tanto, os solos foram artificialmente contaminados por uma solução de Hg divalente, utilizando uma solução mercurial da Merck. Após 24 horas de contaminação, a ecotoxicidade foi avaliada com o emprego de bioensaios agudos com *Eisenia andrei*, conforme os procedimentos descritos em ASTM (2004). A Tabela 6 demonstra as concentrações letais a 50% dos organismos expostos (CL50), estimadas com o auxílio do Software Trimmed Spearman Karbet.

Os resultados apontam para a influência clara das propriedades dos solos estudados sobre a ecotoxicidade do Hg sendo o maior nível de toxicidade atribuído ao latossolo amarelo (Tabela 7). Não foi possível constatar uma diferença significativa entre os valores de CL50 determinados para chernossolo e latossolo vermelho, sendo a CL50 estimada em chernossolo ligeiramente maior.

Os latossolos vermelhos possuem altos teores de matéria orgânica e de oxi-hidróxidos de ferro; suportes geoquímicos que favorecem o sequestro de metais, com consequente

redução da ecotoxicidade. Os chernossolos possuem abundância de argilominerais expansivos, capazes de adsorver metais e de diminuir sua concentração na solução do solo. Os latossolos amarelos, por outro lado, contam com uma mineralogia composta basicamente de caulinita e possuem teores baixos de matéria orgânica - fato que pode explicar a obtenção da mais baixa CL50 entre as classes de solo estudadas (Tabela 7).

Tabela 7. Concentração letal a 50% dos organismos (CL50 – mg/kg de Hg) e intervalos de 95% de confiança obtidos para as classes de solos estudadas.

Solo	Limite Inferior	CL50	Limite Superior
Artificial	15,27	15,86	16,48
Latossolo Vermelho	18,63	19,51	20,44
Chernossolo	15,42	16,07	16,74
Latossolo Amarelo	6,5	7,03	7,59

Fonte: Cesar *et al* (2010a).

6.4 | Bioensaios com Colêmbolos (*Folsomia candida*)

6.4.1 | Cultivos dos Organismos

O procedimento apresentado para o cultivo dos colêmbolos (*Folsomia candida*) está descrito em Cesar (2014). Os animais devem ser cultivados em potes plásticos arredondados contendo um substrato composto de carvão ativado, água e gesso (Figura 15; Figura 15). A umidade do substrato é ajustada três vezes por semana. Organismos adultos são

deixados para produção de casulos por dois dias, após a adição de alimento (fermento moído/granulado). Após essa etapa, os casulos são separados dos animais adultos, e inoculados separadamente para substratos de cultura recém preparados, de forma a sincronizar a idade. Somente organismos jovens com 10-12 dias de idade são utilizados nos experimentos. A cultura de *Folsomia candida* e os bioensaios são executados em incubadora a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e foto-período de 16:8h (luz:escuridão) (Figura 15).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 15. Aspecto das culturas de *Folsomia candida* no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecologia de Solos da Universidade de Coimbra (Portugal): Em incubadora (A) e organismos em detalhe em substrato de cultura (B).

6.4.2 | Teste de Fuga ou Ensaio de Comportamento

O procedimento presente para o ensaio de fuga com *Folsomia candida* está descrito em ISO (2007). Dessa forma, o ensaio é realizado em caixas plásticas cilíndricas (11cm de diâmetro e 4cm de altura) divididas em duas seções de tamanhos iguais (Figura 16), com o auxílio de um cartão plástico (ISO, 2007). Uma seção é preenchida de solo não-contaminado, e a outra

com a mesma quantidade de solo-teste. A umidade do solo deve ser ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água. O cartão plástico é removido e 10 animais são dispostos na interface dos solos (ISO, 2007). Após 48 horas de exposição, o número de animais é verificado em cada seção por adição de água aos recipientes-teste, a exemplo do descrito no item 3.6.1.8. Quando menos de 30% dos animais são encontrados no solo-teste, considera-se que o solo tinha "função de habitat limitada" (ISO, 2007).



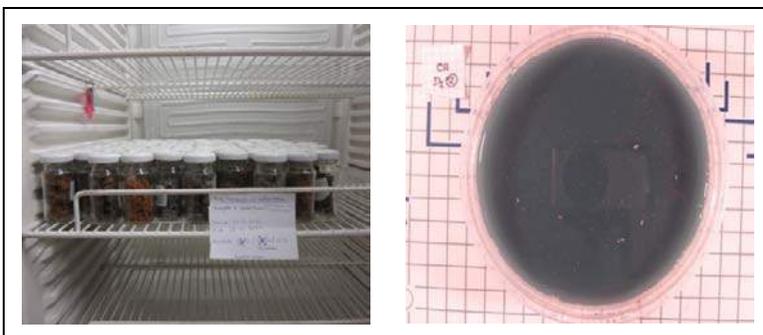
Fonte: Cesar (2013).

Figura 16. Aspecto do ensaio de fuga (*avoidance test*) com *Folsomia candida* na Universidade de Coimbra (Portugal).

6.4.3 | Ensaio de Reprodução

Os ensaios de reprodução com colêmbolos são conduzidos com cinco (5) réplicas contendo dez (10) animais e 30 g de solo-teste (equivalente em peso seco) (ISO, 1999) (Figura 17). A umidade dos solos é ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água. Os recipientes-teste são semanalmente

abertos para aerar o sistema e ajustar a umidade (compensada por repesagem de cada recipiente-teste). Cerca de 25mg de fermento granulado é servido como alimento no início do ensaio. Quando necessário, mais alimento é fornecido após o 14º dia de ensaio. Após 28 dias de experimento, os recipientes-teste são preenchidos com água, sendo adicionadas algumas gotas de tinta azul (Figura 17). Após boiarem sobre a superfície da água (por tensão superficial), os organismos adultos (sobreviventes) e jovens são contados (Figura 17).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 17. Aspecto do ensaio de reprodução com *Folsomia candida* na Universidade de Coimbra (à esquerda); Contagem dos organismos em água, após 28 dias de exposição (à direita).

6.4.4 | Ensaio de Inibição da Alimentação

O ensaio de inibição da alimentação de *Folsomia candida* é baseado na observação de conteúdos escuros dentro do trato intestinal dos animais (Domene et al. 2007), tendo em vista que esses animais são de cor branca. Por esse motivo, este ensaio é somente realizado em solo artificial, sendo que, neste caso, não deve ser utilizada a turfa do musgo *sphagnum*, visto que

ela pode interferir na visualização dos conteúdos intestinais. O ensaio consiste na exposição de 15 organismos a 30g de solo-teste, com umidade ajustada para 40-60% da capacidade de retenção máxima de água. Após 48 horas de exposição, os recipientes-teste são preenchidos com água (Figura 18), de forma a permitir que os organismos flutuem (por tensão superficial). A observação direta do conteúdo intestinal é realizada com o emprego de uma lupa (Figura 18), sendo verificado o número de organismos com conteúdos escuros (i.e., alimentados) no trato intestinal.



Fonte: Cesar (2013) e Domene et al. (2007)

Figura 18. Aspecto dos recipientes-teste utilizados no ensaio de inibição da alimentação de *Folsomia candida* na Universidade de Coimbra (Portugal) (à esquerda); Aspecto de organismos com conteúdo intestinal (abdômen escurecido), visto à lupa (à direita).

Fonte: ADAPTADO DE DOMENE *et al.* (2007).

6.4.5 | Estudo de Caso

CESAR, R. G., NATAL-DA-LUZ, T., BIDONE, E. D., CASTILHOS, Z. C., POLIVANOV, H., SOUSA, J. P. F. A. 2014. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation

based on bioassays with springtails and enchytraids. Environmental Science and Pollution Research, in press.

Neste trabalho, os autores apresentaram os resultados obtidos através da execução de ensaios de reprodução e de fuga (*avoidance*) em solos tratados com sedimentos dragados, visando à simulação da disposição continental do material. Para tanto, foram amostrados latossolos, chernossolos e uma amostra composta de sedimento dragado oriundo do Canal do Cunha (Bacia da Baía de Guanabara, RJ). Os bioensaios agudos e de reprodução com *Folsomia candida* em misturas de diferentes proporções solo-dragado foram executados conforme as recomendações da ISO. Cinco concentrações-teste foram testadas: 1,5; 2,5; 5; 10; e 20%.

Os ensaios de reprodução indicaram que a adição de sedimento dragado foi capaz de incrementar a reprodução dos animais em doses baixas de aplicação do resíduo no solo. O sedimento dragado estudado possui altos teores de matéria orgânica (oriundo majoritariamente de esgoto doméstico), para ter funcionado como fonte de alimento para os animais, especialmente em latossolo, cuja fertilidade é muito baixa.

Os teste de fuga (*avoidance*) indicaram a ocorrência de efeitos mais significativos para misturas de latossolo, em detrimento aos tratamentos de chernossolo. Os autores sugerem que essa observação está relacionada à abundância de argilominerais expansivos em chernossolos, capazes de reduzir a biodisponibilidade de metais para a solução do solo.

6.5 | Bioensaios com Enquitrédeos (*Enchytraeus crypticus*)

6.5.1 | Cultivo dos Organismos

O procedimento apresentado para o cultivo de *Enchytraeus crypticus* está descrito em Cesar (2014). Os animais são cultivados em placas de petri contendo meio de agar-agar (Figura 19). Aproximadamente 0,5 g de aveia finamente moída é servida como alimento uma vez por semana. A cada dois meses, os organismos são transferidos para um novo substrato de agar-agar, com o auxílio de água destilada. A cultura de *Enchytraeus crypticus* e os ensaios são mantidos a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e foto-período de 16:8h (luz:escuridão). Os organismos utilizados nos ensaios devem ser sexualmente maduros (i.e., com clitelo bem desenvolvido) (Figura 19). Alternativamente, o cultivo de *E. crypticus* pode também ser realizado em solos naturais.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 19. Aspecto de organismos adultos (clitelados) da espécie *Enchytraeus crypticus* (A); Aveia moída (à esquerda) e aspecto da cultura de *Enchytraeus crypticus* em meio de agar-agar (à direita) na Universidade de Coimbra (Portugal) (B).

6.5.2 | Ensaio de Reprodução

O ensaio de reprodução com *Enchytraeus crypticus* é conduzido com 20g (equivalente em peso seco) e 10 enquitreídeos adultos por réplica (5), conforme ISO (2004). A umidade dos solos é ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água. Os recipientes-teste são abertos uma vez por semana para ajustar a umidade e aerar os sistemas. No início do experimento, aproximadamente 25 mg de aveia finamente moída é servida como alimento. Quando necessário, mais alimento é adicionado após o 14º dia de exposição. Após 28 dias de exposição, os organismos são eutanasiados e fixados por adição de 5mL de etanol, vermelho de bengala e água ao solo (ISO, 2004) (Figura 20). Cerca de 24 horas após terem sido fixados, o número de organismos jovens é contado com o auxílio de uma lupa (Figura 20).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 20. Enquitreídeos fixados em vermelho de bengala ao final do ensaio de reprodução (à esquerda) na Universidade de Coimbra (Portugal); lupa utilizada na contagem dos organismos jovens (à direita).

6.5.3 | Estudo de Caso

CHELINHO, S., DOMENE, X., CAMANA, P., NATAL-DA-LUZ, T., SCHEFFCZYK, A., RÖMBKE, J., ANDRÉS, P., SOUSA, J.P. 2011. Improving ecological risk assessment in the mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species, *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 30(5), p.1050–1058

Neste trabalho, os autores investigaram (além de outros atributos) a influência potencial de solos de características diversas sobre a reprodução de *E. crypticus*, como suporte ao estabelecimento de um solo-padrão capaz de refletir as condições mediterrâneas de solo e clima. Para tanto, foi realizada uma ampla amostragem de solos superficiais em distintas localidades de Portugal, Espanha e Itália. Os ensaios de reprodução com *E. crypticus* foram efetuados de forma a avaliar eventuais efeitos sobre a reprodução desses animais.

Os resultados revelaram que nenhuma das amostras testadas foi capaz de inibir a reprodução dos enquitreídeos ao ponto de invalidar os ensaios. Embora a análise estatística aponte para a ausência de diferenças significativas entre as amostras, é possível notar claramente a existência de variabilidades espaciais na reprodução dos animais, sendo esta aparentemente controlada pela variação de pH - com redução da reprodução para ambientes mais ácidos. Ainda, os resultados demonstraram maior tolerância de *E. crypticus* a distintas propriedades do solo, quando comparado a *Enchytraeus albidus* (outra espécie-teste de enquitreídeo padronizada para uso em bioensaios).

6.6 | Bioensaios com Microcrustáceos (*Daphnia similis*)

6.6.1 | Cultivo dos Organismos

O cultivo de *Daphnia similis* (Figura 21) é mantido em meio de cultura MS, adaptado para a espécie (CETESB, 2005), com pH entre 7,00 e 7,6, dureza total entre 40 - 48 mg CaCO₃/L., e oxigênio dissolvido na faixa de 60 – 100% de saturação.

Os organismos devem ser acondicionados em béqueres de 2000 mL, com densidade de 25 fêmeas adultas ou 30 filhotes por litro e manipulados com pipetas de 10 mL, evitando contato com o ar no momento da liberação sempre abaixo da linha d'água. Os béqueres são mantidos em câmara de germinação com foto-período de 16 horas de luz (500 – 1000 lux) e temperatura de 20°C ± 2°C. Diariamente, é realizada uma limpeza em todos os béqueres do cultivo (Figura 19) para retirada e contabilização dos filhotes, e remoção de carapaças e depósitos no fundo. Uma vez por semana é realizada a troca total de água de todos os béqueres do cultivo, preparando-se um novo lote de água de cultivo e transferindo-se os organismos para novos béqueres devidamente identificados. Todo o cultivo é alimentado diariamente com alimento algáceo (suspensão algácea de *P. subcaptata*). O volume de alimento adicionado a cada béquer varia conforme a densidade de células de alga na suspensão, respeitando-se o quantitativo de 1 a 5 x 10⁶ células por organismo, conforme determinado pela norma ABNT 12713/04.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 21. Aspecto de *Daphnia similis* (à esquerda); Béquer de cultivo de *Daphnia similis* (à direita) no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.

6.6.2 | Bioensaio Agudo

O bioensaio agudo com microcrustáceos da espécie *Daphnia similis* (Figura 21) está baseado na exposição de fêmeas de seis a 24 horas de idade a lixiviados (elutriatos) de misturas de diferentes proporções solo: LE, por um período de 48 horas (ABNT NBR 12713/2004). O ensaio é realizado com quatro réplicas, contendo cinco organismos cada.

O procedimento adotado para a preparação dos elutriatos está fundamentado nas recomendações de Baun *et al.* (2002), que propõe a agitação orbital (200 rpm) de uma mistura composta de solo-teste: água (1:8) durante um período de 24 horas (Figura 21). Após essa etapa, a mistura é centrifugada, sendo o sobrenadante filtrado e posteriormente congelado para a avaliação ecotoxicológica. Os elutriatos são preparados com o

emprego do meio de cultivo de *D. similis*, meio M. S., conforme ABNT NBR 12713/2004. O emprego de elutriatos na avaliação ecotoxicológica de solos tratados com LE é amplamente conhecido na literatura científica, e os resultados gerados consistem em bons parâmetros para futuras comparações (Maxam *et al.* 2000, Fjällborg *et al.* 2005, Carbonell *et al.* 2009).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 22. Aspecto da montagem de bioensaio agudo com *Daphnia similis* (à esquerda) no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM; Elutriatos em agitação para ensaio com *Daphnia similis* (à direita).

6.6.3 | Estudo de Caso

CESAR, R.G.; ÁLVARO, T.T.; SILVA, M.B.; COLONESE, J.; PEREIRA, C.; POLIVANOV, H.; EGLER, S.G. ; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C. 2010. Biodisponibilidade de contaminantes em solos brasileiros tratados com lodo de esgoto: uma abordagem ecotoxicológica utilizando bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. *Geochimica Brasiliensis*, v. 24, p. 41-49.

O presente trabalho tratou (dentre outros atributos) a avaliação da toxicidade potencial de latossolos e chernossolos acrescidos de lodo de esgoto em um cenário em que os referidos materiais pudessem sofrer lixiviação (via ação intempérica de águas pluviais) e, dessa forma, soluções tóxicas atingissem ecossistemas aquáticos vizinhos. As concentrações-teste de lodo variaram de aproximadamente 6 a 33%. Lixiviados (elutriados) dos solos-teste foram prepadados com o próprio meio M. S. para o cultivo de *D. similis*, respeitando a proporção de 1:8 (solo:meio cultivo). Os ensaios agudos com *D. similis* foram realizados com os lixiviados.

O resultados indicaram a ocorrência de níveis maiores de toxicidade para as misturas de latossolo, em detrimento ao chernossolo. Os chernossolos possuem abundância de argilominerais minerais expansivos, capazes de adsorver cátions metálicos e outros contaminantes positivamente carregados - fato ao qual os autores atribuem para justificar a ocorrência de níveis menores de toxicidade para os tratamentos de chernossolo.

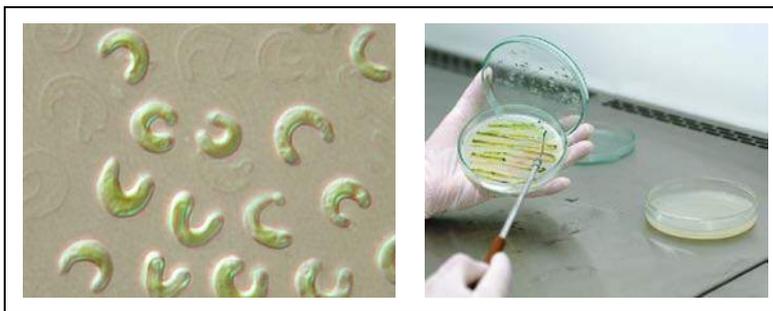
6.7 | Bioensaios com Algas Clorofíceas (*Pseudokirchneriella subcaptata*)

6.7.1 | Cultivo dos Organismos

O cultivo de *Pseudokirchneriella subcaptata* (Figura 22) é mantido em meio LC Oligo sólido, utilizando-se placas de Petri (Figura 23) previamente esterilizadas em autoclave e mantidas sob refrigeração a 4°C por até três meses.

A cada 15 ou 30 dias, conforme a necessidade, é feita uma renovação do estoque de células, transferindo-se em meio estéril (fluxo laminar) e com auxílio de uma alça de metal também estéril, uma parte das células para uma nova placa contendo meio LC Oligo sólido recém-preparado.

Para o preparo do alimento dos cladóceros, as células em meio sólido são transferidas para erlenmyer contendo meio LC Oligo líquido e mantidas em luz e temperatura constantes e aeração estéril por 7 (sete) a 10 dias. Após esse período, o erlenmyer é totalmente vedado com papel alumínio por até 3 (três) dias para que as células decantem e o excesso de meio de cultura possa ser retirado. Após a centrifugação, o concentrado de células restante é ressuspensionado em Meio de Cultura MS e armazenado sob refrigeração a 4°C por até 3 (três) meses. A contagem das células é realizada em Câmara de Neubauer.



Fonte: Cesar (2013).

Figura 23. Aspecto de *Pseudokirchneriella subcaptata* (à esquerda); Raspagem do cultivo de *Pseudokirchneriella subcaptata* (à direita) do Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.

6.7.2 | Ensaio de Reprodução

O bioensaio crônico de reprodução com *Pseudokirchneriella subcapitata* está baseado na avaliação do crescimento da população de algas expostas a elutriatos de solos contaminados. Os ensaios são realizados sob temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, iluminação contínua de 3500 lux ($\pm 10\%$) e velocidade de agitação orbital de 100 a 175 rpm. Os elutriatos são preparados com o meio de cultura utilizado no cultivo das algas, meio L. C. Oligo (ABNT NBR 12648/2005) (Figura 24), utilizando o mesmo procedimento descrito para *Daphnia similis*.

Após 96 horas de exposição, procede-se com a contagem celular de modo a verificar possíveis anomalias no crescimento da população de algas (Figura 24). As biomassas iniciais são subtraídas daquelas obtidas após 96 horas, e o resultado é expresso em porcentagem de inibição de crescimento (ABNT NBR 12648/2005).



Fonte: Cesar (2013).

Figura 24. Elutriatos em agitação para ensaio com algas (*Pseudokirchneriella subcapitata*) (à esquerda) no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM.; Lâmina de Neubauer (à direita).

6.7.3 | Estudo de Caso

CESAR, R.G.; ÁLVARO, T.T.; SILVA, M.B.; COLONESE, J.; PEREIRA, C.; POLIVANOV, H.; EGLER, S.G. ; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C. 2010. Biodisponibilidade de contaminantes em solos brasileiros tratados com lodo de esgoto: uma abordagem ecotoxicológica utilizando bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. *Geochimica Brasiliensis*, v. 24, p. 41-49.

Neste estudo, bioensaios com *P. subcaptata* foram utilizados para a avaliação da ecotoxicidade crônica associada a solos tratados com lodo de esgoto. As concentrações-teste foram baseadas nos resultados dos ensaios agudos com *Daphnia similis* e, dessa forma, foram somente testados elutriatos cujos níveis de imobilidade não eram significativamente diferentes do controle. Dessa forma, as doses variaram entre aproximadamente 6 e 14%.

De modo análogo ao observado para *D. similis*, níveis menores de ecotoxicidade foram observados para o chernossolo - fato que pode estar atrelado à abundância de argilominerais expansivos em sua composição. Alguns indivíduos algáceos também apresentaram visíveis deformações morfológicas, possivelmente ocasionadas pela exposição a elevadas concentrações de matéria orgânica.

7. | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As propriedades dos solos e variações espaciais das classes pedológicas desempenham papel fundamental na ecotoxicidade e na biodisponibilidade potencial de metais para os organismos de fauna edáfica. Os estudos mostrados no decorrer deste livro indicam que a abundância de argilominerais expansivos, de oxi-hidróxidos de ferro e alumínio, de matéria orgânica e altos níveis de fertilidade são capazes de reduzir a ecotoxicidade de solos impactados por resíduos orgânicos (contendo esgoto doméstico) e/ou contaminados por metais.

Os estudos ecotoxicológicos servem de base para o estabelecimento de valores orientadores de qualidade ambiental: não somente no que se refere ao risco ecológico, mas também orientam o gerenciamento do risco à saúde humana, tendo em vista os diversos serviços ecossistêmicos prestados pelo solo à manutenção das atividades humanas (p. ex., agricultura, alimentos, produtos medicinais, controle de pragas, ecoturismo, etc.). A resolução CONAMA 420 de 2009, deliberando sobre a qualidade de solos, não exige a realização destes ensaios, devido, sobretudo, à carência de especialistas em ecotoxicologia de solos no Brasil e à necessária padronização de ensaios. Entretanto, trata-se de uma lacuna essencial a ser preenchida pela legislação, e requer um esforço na consolidação de grupos de pesquisa especializados nesses ensaios.

Especificamente, no caso da necessidade da disposição de material dragado em áreas continentais com misturas de solo: sedimento dragados, a execução de ensaios ecotoxicológicos

será de fundamental importância à determinação de doses (no caso, as quantidades de material dragado) potencialmente tóxicas à saúde do ecossistema terrestre. Estes esforços devem contemplar a execução de ensaios com diferentes tipos de solos e sedimentos dragados de origens diversas (portuários, p.ex., nas áreas de portos do Estado do Rio de Janeiro com sedimentos contaminados por esgoto doméstico e/ou impactados por metais pesados; saneamento ambiental em áreas com rios e canais contaminados), de modo a atender às especificidades e características dos solos e ecossistemas tropicais brasileiros.

Neste contexto, espera-se que a presente publicação possa contribuir para o entendimento efetivo dos processos que regulam a disponibilidade de contaminantes para a biota do solo, com ênfase em substratos pedológicos tropicais. Tais processos devem ser compreendidos à luz da presença de suportes pedogeoquímicos capazes de diminuir a mobilidade de contaminantes, e das vias de exposição consideradas para os distintos receptores ecológicos envolvidos na análise do risco ecotoxicológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)- NBR 12713. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustácea, Cladocera), Rio de Janeiro: ABNT 2004.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)- NBR 13373. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae) Rio de Janeiro: ABNT 2005.
- ALAMINO, R.C.J., POLIVANOV. H., CAMPOS, T.M.P.C., SILVA, V.H.G. SANTOS, L.V., MENDES, J.C. 2007 Biodisponibilidade de cádmio em latossolo acrescido de lodo de esgoto. Anuário do Instituto de Geociências (UFRJ), vol. 30(2), p.45-54.
- ALAMINO, R. C. J. 2010. A utilização de lodo de esgoto como alternativa sustentável na recuperação de solos degradados: Viabilidade, avaliação e biodisponibilidade de metais. Tese (Doutorado em Geologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- ALOUPI, M. ANGELIDIS, M.O. 2001. Geochemistry of natural and anthropogenic metals in the coastal sediments of the island of Lesbos, Aegean Sea. *Environmental Pollution*, vol.113(2), p. 211–219.
- AMIR, S. HAFIDI, M.; MERLINA, G.; REVEL J. 2005. Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. *Chemosphere*, vol. 59(6), p. 801–810.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus*, 2004.

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. Toxicological profile for nickel. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf>. Acessado em 24 março de 2011.
- BONFIM, C., MEDEIROS, Z. 2008. Epidemiologia e geografia: dos primórdios ao geoprocessamento. Revista Espaço para a Saúde, vol.10 (1), p. 53-62.
- BOSSO, S.T. 2007. Bioacessibilidade de chumbo em solos e rejeitos de beneficiamento de minério e sua imobilização como fosfatos. Tese de Doutorado (Geociências), Universidade Estadual de Campinas.
- BOSSO, S.T., ENZWEILER, J. 2008. Ensaio para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. Química Nova, vol.31(2), p.394-400.
- BROOKINS, D. G. 1986. Geochemical behavior of antimony, arsenic, cadmium and thallium: Eh-pH diagrams for 25°C, 1-bar pressure. Chemical Geology, vol.54(3-4), p.271-278.
- BUCH, A. C. 2010. *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) e *Eisenia andrei*, Bouché 1972, como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos, Dissertação de Mestrado (Agronomia), Universidade Federal do Paraná.
- BURTON, D.J., SHEDD, T.R. 2006. Bioaccumulation of Total Mercury and Methylmercury in the Earthworm *Eisenia fetida*, Journal of Water, Air and Soil Pollution, vol.170, p.37-54.
- CANADIAN COUNCIL (Canadian Council of Ministers of the Environment), 2001, Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, Summary Tables, Winnipeg, Canada.
- CARBONELL, G., GÓMEZ, J.P.N., BABÍN, M.M., FERNÁNDEZ, C., ALONSO, E., TARAZONA, J.V. 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol.72, p.1309-1319.

CASARETT AND DOULL'S. Toxicology: the basic science of poisons. Unit 1: General principles of toxicology. New York; McGraw-Hill; 1999. 861 p.

CASTILHOS, Z. C., BIDONE, E. D., CESAR, R. G., EGLER, S. G., BIANCHINNI, M., ALEXANDRE, N., NASCIMENTO, T. Metodologia de Monitoramento da Qualidade das Águas da Bacia Carbonífera Sul Catarinense: Ferramenta para Gestão em Poluição Ambiental, 1, ed, Rio de Janeiro: CETEM: Série Gestão e Planejamento Ambiental, 2010, vol. 1, 105p.

CASTILHOS, Z.C., BIDONE, E.D., LACERDA, L.D. 1998. Increase of the background human exposure to mercury through fish consumption due to gold mining at the Tapajós River region, Pará State, Amazon. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, vol .61, p.202-209.

CASTILHOS, Z.C., BIDONE, E.D., HARTZ, S.M. 2001. Bioaccumulation of mercury by Tucunaré (*Cichla ocellaris*) from Tapajós River region, Brazilian Amazon: a field dose-response approach. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, vol.66, p.631-637.

CAUSSY, D., GOCHFELD, M., GURZAU, E., NEAGU, C., RUEDEL, H. 2003. Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability and risk. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol .56, p.45-51.

CESAR, R. G. 2009. Metais pesados em solos e sedimentos fluviais em antiga área de garimpo de ouro em Descoberto (Minas Gerais): uma abordagem biogeoquímica e ecotoxicológica. Dissertação de Mestrado (Geologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro.

CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; POLIVANOV, H.; CASTILHOS, Z. C.; RODRIGUES, A. P.; ARAÚJO, P. C. 2008. Biodisponibilidade de Metilmercúrio, Zinco e Cobre em Distintas Frações Granulométricas de Solo Contaminado Utilizando Oligoquetas da Espécie *Eisenia andrei*. Anuário do Instituto de Geociências (UFRJ), vol .31, p.33-41.

- CESAR, R. G. 2014. Disposição continental de sedimentos de dragagem em regiões tropicais: avaliação de risco ambiental com base em indicadores pedogeoquímicos e ecotoxicológicos. Tese de doutorado (Geoquímica). Universidade Federal Fluminense.
- Cesar, R.G., Rodrigues, A.P., Santos, M.C., Senderowitz, S., Colonese, J., Moreira, C., Bertolino, L.C., Castilhos, Z.C., Egler, S.G., Maddock, J. 2013. Ecotoxicidade e biodisponibilidade de metais em solos impactados por rejeitos industriais e metalúrgicos em Queimados, RJ, Brasil. *Geociencias (Sao Paulo)*, v. 32, n.4, p. 600-610.
- CESAR, R. G., EGLER, S., POLIVANOV, H., CASTILHOS, Z., RODRIGUES, A. P. 2011. Mercury, copper and zinc contamination in soils and fluvial sediments from an abandoned gold mining area in southern Minas Gerais State, Brazil, *Environmental Earth Sciences*, vol. 64, p.211-222.
- CESAR, R.G., COLONESE, J., SILVA, M.B., EGLER, S.G., BIDONE, E.D., CASTILHOS, Z.C., POLIVANOV, H. 2011a. Distribuição de mercúrio, cobre, chumbo, zinco e níquel em sedimentos de corrente da bacia do Rio Piabanha, Estado do Rio de Janeiro. *Geochimica Brasiliensis*, vol .25, p.35-45.
- CESAR, R.G.; ÁLVARO, T.T.; SILVA, M.B.; COLONESE, J.; PEREIRA, C.; POLIVANOV, H.; EGLER, S.G.; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C. 2010. Biodisponibilidade de contaminantes em solos brasileiros tratados com lodo de esgoto: uma abordagem ecotoxicológica utilizando bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. *Geochimica Brasiliensis*, vol. 24, p. 41-49.
- CESAR, R.G., COLONESE, J., SILVA, M.B., BERTOLINO, L.C., CASTILHOS, Z.C., EGLER, S.G., POLIVANOV, H., BIDONE, E.D., PÉREZ, D.V. 2010A. Avaliação da ecotoxicidade de mercúrio em três tipos de solos utilizando ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. *Geochimica Brasiliensis*, vol. 24, p. 3-12.

CESAR, R.G.; SILVA, M. B.; COLONESE, J.P.; BIDONE, E.D.; EGLER, S.G.; CASTILHOS, Z.C.; POLIVANOV, H. 2012. Influence of the properties of tropical soils in the toxicity and bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended lands. *Environmental Earth Sciences*, vol. 66, p.2281-2292.

CESAR, R.G., NATAL-DA-LUZ, T., SOUSA, J.P.F., COLONESE, J., BIDONE, E.D., CASTILHOS, Z.C., EGLER S.G., POLIVANOV, H. 2014a. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological effects on earthworms. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol.186, p.1487-1497.

CESAR, R.G., NATAL-DA-LUZ, T., BIDONE, E.D., CASTILHOS, Z.C., POLIVANOV, H., SOUSA, J.P.F. 2014b. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. *Environmental Science and Pollution Research*, in press. CESAR, R.G., NATAL-DA-LUZ, T., SILVA, F.; BIDONE, E.D., CASTILHOS, Z.C., POLIVANOV, H., SOUSA, J.P.F. 2014c. Ecotoxicological assessment of a dredged sediment using bioassays with three species of soil invertebrates. *Ecotoxicology*, in press.

CHASIN, A. A. M.; AZEVEDO, F. A. Intoxicação e Avaliação da Toxicidade, In: Chasin, A. A. M., Azevedo, F. A. *As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia*, São Paulo: Rima, cap, 5, 2004, p, 127-138.

CHELINHO, S., DOMENE, X., CAMANA, P., NATAL-DA-LUZ, T., SCHEFFCZYK, A., RÖMBKE, J., ANDRÉS, P., SOUSA, J.P. 2011. Improving ecological risk assessment in the mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species, *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 30(5), p.1050–1058.

Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). 2009. Resolução 420. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=506>>. Acesso em 19 outubro de 2012.

Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). 2012. Resolução 454. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=445>. Acesso em 3 mar. 2013.

- CORTECCI, G. 2013. Geologia e Saúde. Disponível em: <<http://www.cprm.gov.br/publique/media/geosaude.pdf>>. Acesso em 09/03/2013.
- CROUAU, Y., CHENON, P., GISCLARD, C. 1999. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants, *Applied Soil Ecology*, vol.12, p.103-111.
- DEMUELENAERE, R. A. 2010. Análise geoquímica do transporte dos principais elementos constituintes do chorume em meios porosos. Tese de Doutorado (Geoquímica), Universidade Federal Fluminense.
- DESCHAMPS, E., MATSCHULLAT, J. (eds; 2008) Arsênio antropogênico e natural, Um estudo em regiões do Quadrilátero Ferrífero, Fundação Estadual do Meio Ambiente, Belo Horizonte; ISBN 978-85-61029-00-5; 330 p.
- DOMENE, X.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCÁÑIZ, J. M.; ANDRÉS, P.; SOUZA, J. P. 2007. Feeding inhibition in the soil collembolan *Folsomia candida* as an endpoint for the estimation of organic waste ecotoxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol.26, n.º.7, p.1538–1544.
- DREVER, J. I. 1997. *The Geochemistry of Natural Waters*. 3rd Ed., Upper Saddle River (Prentice Hall).
- ELBACHÁ, A.T. Estudo da Influência de Alguns Parâmetros no Transporte de Massa em Solos Argilosos. Rio de Janeiro, 1989.178 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Departamento de Engenharia Civil, PUC-RIO.
- FJÄLLBORG, B., AHLBERG, G., NILSSON, E., DAVE, G. 2005. Identification of metal toxicity in sewage sludge leachate, *Environment International*, vol. 31, p.25-31.
- FIGUEIREDO, B.R., BORBA, R.P., ANGÉLICA, R.S. 2007. Arsenic occurrence in Brazil and human exposure, *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 29, p.109-118.

- FISCHER, L.; BRÜMME, G. W.; BARROW, N. J. 2007., Observations and modelling of the reactions of 10 metals with goethite: adsorption and diffusion processes. *European Journal of Soil Science*, vol. 58(6), p.1304-1315.
- FOUNTAIN, M.T., HOPKIN, S.P. 2004. A comparative study of the effects of metal contamination on collembola in the field and in the laboratory. *Ecotoxicology*, vol. 13, p. 573–587.
- GARCIA, M. 2004. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicology test methods for tropical regions. In: VLEK, P.L.G. et al. (Eds.), *Ecology and Development Series*, vol. 19, Cuvillier Verlag Gottingen, 282p.
- GARRELS, R. M.; CHRIST, C. M. 1965. *Solutions, Minerals, and Equilibria* Harpers. *Geoscience Series*. Harper and Row, New York, p. 450.
- GIMENO-GARCÍA, E., ANDREU, V., BOLUDA, R. 1996. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. *Environmental Pollution*, vol. 92, p.19-25.
- GLEYESSES, C.; TELLIER, S.; ASTRUC, M. 2002. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, p. 451–467.
- ISO (International Organization for Standardization). 1998. *Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (Eisenia fetida) — Part 2: Determination of effects on reproduction*, ISO 1268–2, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization). 1999. *Soil Quality – Inhibition of Reproduction of Collembola (Folsomia candida) by Soil Pollutants*, ISO 11267, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization). 2004. *Soil quality — Effects of pollutants on Enchytraeidae (Enchytraeus sp.), Determination of effects on reproduction*, ISO 16387, Geneva, Switzerland.

- ISO (International Organization for Standardization). 2007. Soil Quality – Avoidance test for Testing the Quality of Soils and Effects of Chemicals on Behavior – Part 2: Test with Collembola (*Folsomia candida*), ISO Draft 17512-2, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization). 2008. Draft, Avoidance Test for Testing the Quality of Soils and the Toxicity of Chemicals – Part 1: Test with Earthworms (*Eisenia foetida*), Geneva, ISO.
- HYLANDER, L.D., MEILI, M., OLIVEIRA, L.J., SILVA, E.D., GUIMARÃES, J.R., ARAUJO, D.M., NEVES, R.P., STACHIW, R., BARROS, A.J.P., SILVA, G.D. 2000. Relationship of mercury with aluminium, iron and manganese oxi-hydroxides in sediments from the Alto Pantanal, Brazil, *The Science of the Total Environment*, vol. 260, p.97-107.
- HSU, P. H. Aluminium oxides and oxyhydroxides, In: DIXON, J, B.; WEED, S, B, *Minerals in soil environments*, 2, ed, Madison: Soil Science Society of America Journal, 1989, p, 331-378.
- KATZ, S.A., SALEM, H. 1993. The toxicology of chromium with respect to its chemical speciation: a review. *Journal of Applied Toxicology*, vol. 13, p.217-224.
- KRAUSKOPF, C. B. 1967. *Introduction to Geochemistry*. 1st edition, McGraw-Hill Companies.
- KUPERMAN, R. G.; CHECKAI, R. T.; GARCIA, M. V. B.; RÖMBKE, J.; STEPHENSON, G. L.; SOUSA, J. P. 2009. State of Science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 44 (8), p. 811-824.
- LACAZ, C. S., BARUZZI, R.G., SIQUEIRA J. W. *Introdução à Geografia Médica do Brasil*. São Paulo: Edgar Blucher Ltda. Editora da Universidade de São Paulo, 1972.

- LANNO, R., WELLS, J., CONDER, J., BRADHAM, K., BASTA, N. The bioavailability of chemicals in soils for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 57, p. 39-47. 2003.
- LICHT, O.A.B., MORITA, M.C., TARVINEN, T. 1996. A utilização de dados de prospecção geoquímica de flúor, no primeiro planalto paranaense, na identificação de áreas de interesse para a saúde pública - uma abordagem preliminar. *Geochimica Brasiliensis*, vol.10(1), p.57-69.
- LANDMEYER, J.E., BRADLEY, P.M., CHAPELLE, F.H. 1993. Influence of Pb on microbial activity in Pb-contaminated soils, *Soil Biology and Biochemistry*, vol.24, p.1465-1466.
- LUKKARI, T., ASTSINKI, M., VÄISÄNEN, A., HAIMI, J. 2005. Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworms tests. *Applied Soil Ecology*, vol.30, p.133-146.
- MATSCHULLAT, J., BORBA, R.P., DESCHAMPS, E., FIGUEIREDO, B.R., GABRIO, T., SCHWENK, M. 2000. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. *Applied Geochemistry*, vol.15, p.181-190.
- MATSCHULLAT, J., BIRMANN, K., BORBA, R.P., CIMINELLI, V.S.T., DESCHAMPS, E.M., FIGUEIREDO, B.R., GABRIO, T., HAßLER, S., HILSCHER, A., JUNGHÄNEL, I., DE OLIVEIRA, N., SCHMIDT, H., SCHWENK, M., DE OLIVEIRA VILHENA, M.J., WEIDNER, U. 2007. Long-term environmental impact of As-dispersion in Minas Gerais, Brazil, In: Bhattacharya, P., Mukherjee, A.B., Bundschuh, J., Zevenhoven, R., Loeppert, R.H. (eds) *Arsenic in soil and groundwater environments: biogeochemical interactions, Trace metals and other contaminants in the environment*, vol. 9, p.365—382, Elsevier.
- MAXAM, G., RILA, J., DOTT, W., EISENTRAEGER, A. 2000. Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 45, p.240-246.

- MCKENZIE, R.M., The adsorption of lead and other heavy metals on oxides of manganese and iron. *Australian Journal of Soil Research*, vol. 18, p. 61-73, 1989.
- MEYER, J.S. 2002. The utility of the terms “bioavailability” and “bioavailable fraction” for metals. *Marine Environmental Research*, vol. 53(4), p.417–423.
- MORAES R.P., FIGUEIREDO, B.R., LAFON, J. 2004. Pb-isotopic tracing of metal-pollution sources in the Ribeira Valley, Southeastern Brazil. *Terrae*, vol. 1, p.26-33.
- MÜLLER, G. 1979. Schwermetalle in den sediments des Rheins. *Veränderungen Seite, Umschau*, vol. 78, p.778-783.
- NAHMANI, J., HODSON, M.E., DEVIN, S., VIJVER, M.G. 2009. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated soils. *Environmental Pollution*, vol.157, p.2622-2628.
- NATAL-DA-LUZ, T., RÖMBKE, J., SOUSA, J.P. 2008. Avoidance tests in site-specific risk assessment—influence of soil properties on the avoidance response of collembola and earthworms, *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 27(5), p.1112–1117.
- NOBRE, M.M.M. Estudo experimental do transporte de poluentes em solos argilosos compactados. Rio de Janeiro, 1987. 214p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Departamento de Engenharia Civil, PUC-RIO.
- OHRIEL, D.M., PATERSON, M.J., BLANCHFIELD, P.J., BODALY, R.A., GILMOUR, C.C., HINTELMANN, H. 2008. Temporal changes in the distribution, methylation, and bioaccumulation of newly deposited mercury in an aquatic ecosystem. *Environmental Pollution*, vol. 154, p.77-88.
- ORUC, N. 2008. Occurrence and problems of high fluoride waters in Turkey: an overview. *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 30, p.315-323.

- PAOLIELLO, M.M.B., CAPITANI, E.M., CUNHA, F.G., MATSUO, T., CARVALHO, M.F., SAKUMA, A., FIGUEIREDO, B.R. 2002. Exposure of children to lead and cadmium from a mining area of Brazil. *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 88, p.120-128.
- PEAKALL, D., BURGER, J. 2003. Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 56, p.110-12.
- PEREDNEY, C.L., WILLIAMS, P.L. 2000. Utility of *Caenorhabditis elegans* for Assessing Heavy Metal Contamination in Artificial Soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol.39, p.113–118.
- PLANER-FRIEDRICH, B., LONDON, J., MCCLESKEY, R.B., NORDSTROM, D.K., WALLSCHLÄGER, D. 2007. Thioarsenates in geothermal waters of Yellowstone National Park: Determination, preservation, and geochemical importance. *Environmental Science and Technology*, vol. 15: p.5245-5251.
- RABIEH, S., HIRNER, V., MATSCHULLAT, J. 2008. Determination of arsenic species in human urine using high-performance liquid-chromatography (HPLC) coupled with inductively-coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 23, p.544–549.
- SELLINUS, O. 2004. *Medical Geology: an emerging specialty*, *Terrae*, vol. 1, p.8-14.
- SILVA, C.R. 2008. Programa Nacional de Pesquisa em Geoquímica Ambiental e Geologia Médica (PGAGEM): Resultados 2003 – 2008. In: *Congresso Brasileiro de Geologia 44, Curitiba, Livro de Resumos*, p. 374.
- REIMANN, C., GARRET, R.G. 2005. Geochemical background – concept and reality. *The Science of the Total Environment*, vol. 350, p.12-27.

- REIMANN, C., ÄYRÄS, M., CHEKUSHIN, V., BOGATYREV, I., BOYD, R., CARITAT, P., DUTTER, R., FINNE, T.E., HALLERAKER, J.H., JAEGER, O., KASHULINA, G., LEHTO, O., NISKAVAARA, H., PAVLOV, V., RÄISÄNEN, M.L., STRAND, T., VOLDEN, T. 1998. Environmental geochemical atlas of the Central Barents Region. ISBN 82-7385-176-1, NGU-GTK-CKE Special Publication, Geological Survey of Norway, Trondheim, Norway.
- REIMANN, C., SIEWERS, U., TARVAINEN, T., BITYUKOVA, L., ERIKSSON, J., GILUCIS, A., GREGORAISKIENE, V., LUKASHEV, V.K., MATINIAN, N.N., PASIECZNA, A. 2003. Agricultural soils in northern Europe: a geochemical atlas, Geol JB D, SD 5: 279 p, plus CD-ROM; Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- RODRIGUES, A.P.C. 2006. Avaliação de risco ecológico em ecossistemas aquáticos contaminados por mercúrio. Dissertação (Mestrado em Geoquímica). Universidade Federal Fluminense.
- RODRIGUES-FILHO, S., MADDOCK, J.E.L. 1997. Mercury pollution in two gold mining areas of the Brazilian Amazon. *Journal of Geochemical Exploration*, vol .58, p.231-240.
- RODRIGUES-FILHO, S. 1995. Metais pesados nas sub-bacias hidrográficas de Poconé e Alta Floresta (MT). Série Tecnologia Ambiental, Centro de Tecnologia Mineral, CETEM/MCT, Rio de Janeiro, RJ.
- RODRIGUES FILHO, S.; CASTILHOS, Z. C.; SANTOS, R. L. C.; YALLOUZ, A. V.; NASCIMENTO, F. M. F.; EGLER, S. G. Environmental and health assessment in two small scale gold mining areas—Indonesia— Sulawesi and Kalimantan. CETEM's Technical Final Report to UNIDO-Reserved; 2004. 211 pp.
- ROULET, M., LUCOTTE, M. 1995. Geochemistry of mercury in pristine and flooded ferrallitic soils of a tropical rain forest in French Guiana, South America. *Water Air and Soil Pollution*, vol. 80, p.1079-1085.

- SALMINEN, R., CHEKUSHIN, V., TENHOLA, M., BOGATYREV, I., GLAVATSKIKH, S.P., FEDOTOVA, E., GREGORAUSKIENE, V., KASHULINA, G., NISKAVAARA, H., POLISCHUOK, A., RISSANEN, K., SELENOK, L., TOMILINA, O., ZHDANOVA, L. 2004. Geochemical atlas of Eastern Barents Region, Elsevier, Amsterdam; 548 p.
- SANTOS, A.R.L., MELO-JUNIOR, G., SEGUNDO, J.E.A.G. 2002. Concentração de metais pesados em frações granulométricas de sedimentos de fundo do rio Pitimbu, região sul da Grande Natal (RN): implicações para levantamentos ambientais. Revista de Geologia (Fortaleza), vol. 15, p.01-08.
- SENDEROWITZ, S., CESAR, R.G. 2011. Teores de mercúrio em águas, solos e sedimentos fluviais em área impactada por mineração em Paracatu (MG). In: XIX Anais da Jornada de Iniciação Científica do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCTI).
- SHARMA, R.K., AGRAWAL, M., MARSHALL, F. 2007. Heavy metal contamination of soil and vegetables in suburban areas of Varanasi, India. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 66, p.258-266.
- STRAALEN, N.M., DONKER, M.H., VIJVER, M.G., GESTEL, C.A.M. 2005. Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. Environmental Pollution, vol. 136, p.409-417.
- SUTHAR, S., SINGH, S. 2008. Bioconcentrations of metals (Fe, Cu, Zn, Pb) in earthworms (*Eisenia fetida*), inoculated in Municipal sewage sludge: do earthworms pose a possible risk of terrestrial food chain contamination? Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 24(1), p.25-32.
- SVENDSEN, C., WEEKS, J. M. 1996. Relevance and Applicability of a Simple Earthworm Biomarker of Copper Exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 36, p.72-79.
- TESSIER, A., CAMPBELL, P.G.C., BISSON, M. 1979. Sequential extraction procedure for speciation of particulate traces metals. Analytical Chemistry, vol. 51 (7), p.844-851.

- TRIEGEL, E. X. Attenuation by soil of selected potencial contaminants from coal conversion facilities: a literature review. Oak Ridge National laboratory ORNL/TM 7249, 1980.
- TUREKIAN, K.K., WEDEPOHL, K.H. 1961. Distribution of the Elements in some major units of the Earth's crust. Geological Society of America, Bulletin, vol. 72, p.175-192.
- U.S.EPA. – United States Environmental Protection Agency (1998), Guidelines for Ecological Risk Assessment, Washington DC, EPA/630/R095/002F.
- VAN GESTEL, C.A.M., BORGMAN, E.E.F., VERWEIJ, R.A., ORTIZ, M.D. 2011. The influence of soil properties on the toxicity of molybdenum to three species of soil invertebrates, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 74, p.1–9.
- VASCONCELOS, J.M. 2011. Considerações sobre a geoquímica das águas superficiais do alto rio paraná, na região de Porto Rico (PR) e as contribuies para a geografia da saúde. Monografia (Graduao em Geografia). Universidade Estadual de Londrina.
- VIJVER, M.G., VINK, J.P.M., MIERMANS, C.J.H., GESTEL, C.A.M. 2003. Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. Soil Biology and Biochemistry, vol. 35, p.125-132.
- YIN, Y., ALLEN, H.E., LI, Y., HUANG, C.P., SANDERS, P.F. 1996. Adsorption of mercury(II) by soil: effects of pH, chloride, and organic matter. Journal of Environmental Quality, vol. 25, p.837-844.
- WEERASOORIYA, R., TOBSCHALL, H.J., WIJESEKARA, H.K.D.K., ARACHCHIGE, E.K.I.A.U.K., PATHIRATHNE, K.A.S. 2003. On the mechanistic modeling of As(III) adsorption on gibbsite. Chemosphere, vol. 51, p.1001-1013.
- WASSERMAN, J.C., HACON, S.S., WASSERMAN, M.A. 2001. O Ciclo do Mercúrio no Meio Ambiente Amaznico. Mundo e Vida, vol. 2, p.46-52.

- WASSERMAN, J.C., HACON, S., WASSERMAN, M.A. 2003. Biogeochemistry of mercury in the Amazonian environment. *Ambio*, vol. 32(5), p.336-342.
- WHO (World Health Organization) (1990) Environmental health criteria for methylmercury. Geneva, p. 34.
- WINDMÖLLER, C.C., SANTOS, R., ATHAYDE, M., PALMIERI, H. 2007. Distribuição e Especificação de Mercúrio em Sedimentos de Áreas de Garimpo de Ouro no Quadrilátero Ferrífero, *Química Nova*, vol. 30(5), p.1088-1094.
- ZASO, J.A., PAULL, J.S., JAFFE, P.R. 2008. Influence of plants on the reduction of hexavalent chromium in wetland sediments. *Environmental Pollution*, vol. 156, p.29-33.

SÉRIES CETEM

As Séries Monográficas do CETEM são o principal material de divulgação da produção científica realizada no Centro. Até o final do ano de 2010, já foram publicados, eletronicamente e/ou impressos em papel, mais de 200 títulos, distribuídos entre as seis séries atualmente em circulação: Rochas e Minerais Industriais (SRMI), Tecnologia Mineral (STM), Tecnologia Ambiental (STA), Estudos e Documentos (SED), Gestão e Planejamento Ambiental (SGPA) e Inovação e Qualidade (SIQ). A Série Iniciação Científica consiste numa publicação eletrônica anual.

A lista das publicações poderá ser consultada em nossa homepage. As obras estão disponíveis em texto completo para download. Visite-nos em <http://www.cetem.gov.br/series>.

Últimos números da Série Tecnologia Ambiental

- STA-68 **Recuperação de metais contidos em catalisadores de craqueamento catalítico esgotados.** Flávio Lemos e Ivan Ondino Masson, 2013.
- STA-67 **Logística Reversa: Instrumento da Gestão Compatilhada na Atual Política Nacional de Resíduos Sólidos.** Eraldo José Brandão e Luis Gonzaga Santos Sobral., 2012.
- STA-66 **Solubilização Biológica de Potássio.** Diego Valentim Crescente Cara, Daniele Leonel da Rocha, Cláudia Duarte da Cunha, Andréa Camardella de Lima Rizzo, Eliana Flávia Camporese Sérvulo, 2012.

INFORMAÇÕES GERAIS

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral
Avenida Pedro Calmon, 900 – Cidade Universitária
21941-908 – Rio de Janeiro – RJ

Geral: (21) 3867-7222

Biblioteca: (21) 3865-7218 ou 3865-7233

Telefax: (21) 2260-2837

E-mail: biblioteca@cetem.gov.br

Homepage: <http://www.cetem.gov.br>

NOVAS PUBLICAÇÕES

Se você se interessar por um número maior de exemplares ou outro título de uma das nossas publicações, entre em contato com a nossa biblioteca no endereço acima.

Solicita-se permuta.

We ask for interchange.



Missão Institucional

A missão do Centro de Tecnologia Mineral - CETEM é desenvolver tecnologia para o uso sustentável dos recursos minerais brasileiros.

O CETEM

O Centro de Tecnologia Mineral - CETEM é um instituto de pesquisas, vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI, dedicado ao desenvolvimento, à adaptação e à difusão de tecnologias nas áreas minerometalúrgica, de materiais e de meio ambiente.

Criado em 1978, o Centro está localizado no campus da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, na Cidade Universitária, no Rio de Janeiro e ocupa 20.000m² de área construída, que inclui 22 laboratórios, 3 usinas-piloto, biblioteca especializada e outras facilidades.

Durante seus 37 anos de atividade, o CETEM desenvolveu mais de 720 projetos tecnológicos e prestou centenas de serviços para empresas atuantes nos setores minerometalúrgico, químico e de materiais.