

**BIOACESSIBILIDADE DE ARSÊNIO EM
ÁREA DE MINERAÇÃO DE OURO,
PARACATU (MG)**

FÁBIO BENEDITO ONO

2009

FÁBIO BENEDITO ONO

**BIOACCESSIBILIDADE DE ARSÊNIO EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE
OURO, PARACATU (MG)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ono, Fábio Benedito.

Bioacessibilidade de arsênio em área de mineração de ouro,
Paracatu (MG) / Fábio Benedito Ono. – Lavras : UFLA, 2009.
70 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme.
Bibliografia.

1. Poluição ambiental. 2. Elementos-traço. 3. Testes in vitro. 4.
Avaliação de risco. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 549.13

FÁBIO BENEDITO ONO

**BIOACCESSIBILIDADE DE ARSÊNIO EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE
OURO, PARACATU (MG)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 13 de novembro de 2009.

Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares

UFLA

Dr. Giuliano Marchi

Embrapa Cerrados

Profa. Dra. Regla Toujaguez la Rosa Massahud

UNEB

Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

UFLA

(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, **Norio e Creusa**, pela fé, amor e confiança.
Aos meus Irmãos, **Fer, Tati, Laine, Júnior, Vivi e Etelvina**, pelo incentivo, apoio e carinho.

OFEREÇO

A **Marlizy Pereira Soley**, pelo incentivo, força, serenidade, alegria, companheirismo e por torcer pelo meu sucesso,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua fidelidade, amor e sabedoria concedida.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Luiz Roberto Guimarães Guilherme, pelos valiosos ensinamentos, orientação, dedicação, enorme confiança que sempre demonstrou e, em especial, pela amizade, sinceramente muito obrigado.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares, Dr. Giuliano Marchi e Profa. Dra. Regla Toujaguez la Rosa Massahud, pelas importantes sugestões para esta dissertação.

Aos funcionários do DCS, João Gualberto, Roberto, Hilton, Pezão, Eliane, Daniela, Emerson, Gilson, Humberto e Simone, pela amizade e pela ajuda oferecida.

Aos alunos de iniciação científica, Nise, Leandro, Henrique, Igor e Rodolfo, pela importante colaboração na realização dos trabalhos experimentais.

A todos os meus amigos do DCS, especialmente, Geila, Veri, Milson, Guilherme, Letúzia, Ana Luiza, Mina, Giovana e Ana Paula, pela valiosa ajuda para a concretização deste trabalho e pela agradável convivência.

Aos amigos Dedé, Walmes, Carlos, Henrique e Glauco, pela agradável convivência.

Enfim, a todos aqueles que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1	01
1 Introdução	01
2 Referencial Teórico	03
2.1 Arsênio	03
2.2 Biodisponibilidade (teste <i>in vivo</i>)	05
2.3 Bioacessibilidade (teste <i>in vitro</i>)	08
3 Objetivos	12
4 Referências Bibliográficas	13
CAPÍTULO 2: Replicação do protocolo IVG para estimar arsênio bioacessível em materiais de área de mineração de ouro em Paracatu (MG)	20
1 Resumo	20
2 Abstract	22
3 Introdução	23
4 Material e Métodos	26
4.1 Descrição do local de estudo e amostragem	26
4.2 Procedimento para determinação dos teores de As	27
4.2.1 Teor de As total	27
4.2.2 Teor de As extraído por Mehlich-1	27
4.2.3 Teor de As bioacessível (Teste <i>In Vitro Gastrintestinal</i>)	28
4.3 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)	29
5 Resultados e Discussão	30

6 Conclusões	37
7 Referências Bibliográficas	38
CAPÍTULO 3: Bioacessibilidade e avaliação de risco à saúde para arsênio em área de mineração de ouro, Paracatu (MG)	43
1 Resumo	43
2 Abstract	45
3 Introdução	46
4 Material e Métodos	48
4.1 Descrição do local de estudo e da amostragem	48
4.2 Procedimento para determinação dos teores de As	49
4.2.1 Teor de As total	49
4.2.2 Teor de As extraído por Mehlich-1	49
4.2.3 Bioacessibilidade de As <i>In Vitro Gastrintestinal</i>	49
4.3 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)	51
4.4 Estimativa para avaliação da exposição	52
5 Resultados e Discussão	53
5.1 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)	53
5.2 Teor de As total (USEPA 3051 A)	54
5.3 Teor de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível	56
5.4 Bioacessibilidade de As (%)	58
5.5 Estimativa da dose de exposição	60
5.6 Correlação entre os teores de As extraídos por diferentes extratores	62
6 Conclusões	65
7 Referências Bibliográficas	66

LISTA DE ABREVIATURAS

UFLA – Universidade Federal de Lavras
ATSDR – Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças
B – Bioacessibilidade
BR – Biodisponibilidade relativa
BW – Massa corpórea
CDI – Dose de ingestão diária de arsênio
CETESB – Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Básico do Estado de São Paulo
CF – Fator de conversão de unidade
EF – Frequência de exposição
EPC – Teor de arsênio total
HI – Índice de perigo
IRIS – Sistema de Informação de Risco Integrado
IVG – In Vitro Gastrintestinal
LD – Limite de detecção
NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia dos EUA
PBET – Teste de extração baseado na fisiologia
QR – Quociente de risco
RfD – Dose de referência
SIR – Taxa de ingestão de solo
USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
WHO – Organização Mundial da Saúde

RESUMO

ONO, Fábio Benedito. **Bioacessibilidade de arsênio em área de mineração de ouro, Paracatu (MG)**. 2009. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Áreas de mineração de ouro são importantes do ponto de vista do desenvolvimento econômico, porém os solos destas áreas são drasticamente alterados por atividades antrópicas. Além disso, o material de rocha que contém o ouro, geralmente está associado à presença do arsênio (As), um elemento tóxico e carcinogênico. Tal elemento, quando exposto à camada superficial do solo, sofre alterações na sua forma química e ou é transferido para outros meios (e.g., água, ar), podendo entrar na cadeia trófica. Crianças, em contato frequente com solos contaminados por As, têm como principal rota de exposição ao elemento, a ingestão involuntária desses solos. Considerando a importância dessa via de exposição, testes de bioacessibilidade de As são utilizados no intuito de estimar a contribuição desta rota em uma avaliação de risco à saúde humana. Tais estudos podem indicar se há ou não risco de contaminação dos habitantes destas áreas, norteados políticas públicas que busquem melhorias na qualidade de vida local. O presente estudo foi realizado com os objetivos de: (i) replicar e validar o protocolo de bioacessibilidade *In vitro gastrointestinal* para avaliar a bioacessibilidade de As em amostras estratificadas (0-2 e 2-10 cm) de uma área de mineração de ouro em Paracatu (MG); (ii) comparar os teores de As bioacessível com o extraído por Mehlich-1; e, (iii) avaliar a exposição humana aos materiais contaminados com As, considerando um cenário hipotético de máximo risco (ingestão de solo por crianças). Nas dependências da mina aurífera, as áreas amostradas foram: RPPN, B1, Exp. B1, B2, estéril e rejeito. Os teores de As bioacessível (gástrico e gastrointestinal) encontrados no material de referência (NIST 2710) se aproximaram dos valores reportados em outros estudos, validando a reprodução e a aplicação do protocolo. Os menores teores de As total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível foram encontrados para a área RPPN. Todas as amostras da área de mineração apresentaram baixos percentuais de As bioacessível. O cálculo da dose de exposição, para o cenário hipotético de risco, indicou que, com exceção do rejeito, os materiais das áreas contribuem, no máximo, pela rota de exposição em questão (ingestão de solo), com 9,5% da entrada de As máxima permitida por dia ($0,3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ BW dia}^{-1}$). Correlação entre os teores de As extraído por Mehlich-1 e o bioacessível foi verificada para a fase gástrica, nas duas profundidades de coleta, e gastrointestinal para a profundidade de 2 a 10 cm.

*Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme – UFPA

ABSTRACT

ONO, Fábio Benedito. **Bioaccessibility of arsenic in a gold mining area, Paracatu (MG)**. 2009. 70 p. Dissertation (Master in Soil Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Gold (Au) mining areas are important from the standpoint of economic development, nevertheless soils from these areas are drastically altered by anthropic activities. In addition, the Au-carrying rock material usually contains arsenic (As), a toxic and carcinogenic element. When exposed to the soil surface layer, arsenic undergoes alterations in its chemical form and, or, is transferred to other media (e.g., water, air), being able to enter into the food chain. Involuntary soil ingestion by children is a major route of exposure in As-contaminated soils. Considering the importance of this route of exposure, bioaccessibility tests with As are used with the intent of estimating the contribution of this route in a human health risk assessment. Such studies are useful for estimating risks for people living nearby gold-mining areas and might help decision makers and regulators seeking improvements in public health. The present study aimed at: (i) replicating and validating the In Vitro Gastrointestinal (IVG) bioaccessibility protocol to evaluate the bioaccessibility of As in stratified samples (0-2 and 2-10 cm) of a gold mining area in Paracatu (MG), Brazil; (ii) comparing the bioaccessible levels of As with those extracted by Mehlich-1; and, (iii) evaluating human exposure to As-contaminated materials, considering a hypothetical maximum risk scenario (soil ingestion by children). The selected areas in the gold mine were: reference area = Private Natural Reserve, B1 = mined oxidized soil layer, Exp. B1 = experiment over B1, B2 = mined reduced soil layer, sterile, and pond tailings. The concentrations of bioaccessible As (gastric and gastrointestinal) found in the reference material (NIST 2710) matched those reported in other studies, validating the reproduction and application of the IVG protocol. The lowest total-, Mehlich-1- and bioaccessible-extracted As levels were found for the reference area. All samples of the mining area presented a low percentage of bioaccessible As. The calculated dose of exposure for the hypothetical risk scenario indicated that, except for the pond tailings, in all other areas the exposure route considering soil ingestion contributed at most to 9.5% of the maximum allowed As ingestion per day ($0.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{BW day}^{-1}$). Correlation between As levels extracted by Mehlich-1 and bioaccessible As was verified for the gastric phase, at the two sampling depths, and for the gastrointestinal phase for samples collected at 2 to 10 cm.

*Adviser: Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Na natureza, o arsênio (As) está normalmente associado a formas geoquímicas pouco nocivas ao homem. Contudo, atividades antrópicas, especialmente a mineração e o beneficiamento de bens metálicos, tendem a expor esse elemento às condições do meio (e.g., oxidação) que podem transformá-lo em formas nocivas.

Embora as atividades de mineração sejam de fundamental importância para a obtenção de materiais necessários para a fabricação de bens indispensáveis para o homem e muitos os benefícios que proporcionam para a sociedade e o desenvolvimento do país, elas podem causar impactos ambientais que levam a danos ao ambiente, comprometendo os ecossistemas, a saúde da população e a vida das gerações futuras.

As técnicas de mineração do ouro, realizadas por máquinas, fragmentam e expõem à superfície do solo material de rocha que contém As e outros elementos-traço. Este material, após a extração do ouro, normalmente permanece na superfície (como substratos de rocha ou rejeitos), propiciando condições para o As assumir formas nocivas aos seres humanos. O esgotamento do ouro nas minas e ou o encerramento das atividades de exploração podem deixar áreas extensas contaminadas, favorecendo um enorme risco de contaminação de pessoas, especialmente crianças, que são as mais frágeis em um cenário de avaliação de risco.

Diante do exposto e dada a relevância da atividade de exploração de ouro em Minas Gerais, pesquisas avaliando a bioacessibilidade de As adquirem elevada importância em áreas impactadas por atividades de mineração,

informação esta ainda inexistente no estado. Estudos dessa natureza podem dar um indicativo de risco de contaminação pela exposição dos habitantes próximos a essas áreas, podendo, inclusive, nortear políticas públicas nesse sentido.

A bioacessibilidade de um contaminante está sendo cada vez mais utilizada como um indicador chave de risco do contaminante para a saúde humana (Adriano et al., 2004). Esse tipo de teste reúne características para uma avaliação de risco rápida e confiável, sendo considerado uma boa alternativa, caso métodos *in vivo* não possam ser utilizados (Bosso, 2007).

O objeto deste estudo é uma área de mineração de ouro situada em Paracatu, MG, cuja atividade tem sido realizada há mais de 20 anos. Hoje, a atividade da empresa responsável pela mineração é considerada o mais importante empreendimento industrial da região (Kinross..., 2009).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Arsênio

O arsênio (As) é classificado como o número um na lista de poluentes nocivos à saúde humana pela Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças - ATSDR (2007). Trata-se de um metaloide de ocorrência natural em ambientes terrestres e aquáticos e componente de mais de 245 minerais, cuja concentração média na crosta terrestre situa-se ao redor de 1,5 a 3 mg de As kg⁻¹ (Mandal & Suzuki, 2002).

Entretanto, têm sido encontrados elevados teores de As no ambiente, o que pode representar risco para a saúde humana (Rodriguez et al., 1999; Ruby et al., 1999; Pouschat & Zagury, 2006; Rieuwerts et al., 2006; Smith et al., 2008; Girouard & Zagury, 2009), especialmente no entorno de áreas de mineração de ouro (Borba et al., 2003; Juhasz et al., 2007; Lee et al., 2008; Choe et al., 2009).

O metaloide pode ser encontrado em superfície e subsuperfície de corpos d'água, alimentos e solos, embora o risco de exposição seja muito maior pela ingestão de água potável do que pelo alimento ou solo (Brown & Ross, 2002). O arsênio tem a tendência de se concentrar nos horizontes superficiais dos solos, devido à deposição atmosférica e à reciclagem da vegetação (Alloway, 1990). Assim, a exposição ao As pela ingestão de produtos agrícolas, contato com a pele e ingestão de solo pode resultar em risco para a saúde humana (Zakharova et al., 2002).

O As tem sido muito utilizado em diversas aplicações, tais como na indústria, na medicina, na formulação de pesticida e inseticida, como aditivo de alimento animal e na conservação de madeira (Mandal & Suzuki, 2002). Como exemplo, tem-se o arsenato de sódio, que tem sido extensivamente utilizado como um pesticida (e.g., desfoliante em algodão) em campos agrícolas, elevando as concentrações de As no solo (Datta et al., 2007).

Diariamente, os humanos são naturalmente expostos a baixos níveis de As, por meio de ingestão de alimentos e água e pela inalação do ar (Basu et al., 2001). O As é um elemento tóxico e carcinogênico cujas principais patologias provocadas pela intoxicação aguda e crônica são problemas no metabolismo, tumores cutâneos, úlceras, gastrites, diarreias, arritmias cardíacas, câncer do pâncreas e pulmão, maior frequência de abortos espontâneos, fetos com baixo peso, dores de cabeça, confusão mental e anemias (Hutton, 1987; Morton & Dunnette, 1994; Chen & Lin, 1994; United States Environmental Protection Agency - USEPA, 2000; World Health Organization - WHO, 2001).

O As ocorre nos solos, na sua maioria, no estado de oxidação III e V. Sua forma oxidada (V), denominada arsenato, ocorre em solos bem aerados, enquanto em ambiente quimicamente reduzido prevalecem espécies de arsenito (III). Embora arsenito seja a forma mais tóxica, arsenato é também tóxico a humanos, plantas e microrganismos (Datta et al., 2007). Portanto, a toxidez do elemento depende muito de sua forma química e de seu estado de oxidação (Mandal & Suzuki, 2002).

O As elementar não é tóxico, mas, se ingerido, é rapidamente convertido a produtos tóxicos pelo organismo humano. A maior parte dos compostos contendo As, sejam eles orgânicos ou inorgânicos, penta- ou trivalentes, acaba sendo convertida pelo organismo ao trióxido de As, o qual reage muito rapidamente com os grupos sulfidrilas (-SH) de proteínas, inibindo a ação enzimática e bloqueando a respiração celular (Tsalev & Zaprianov, 1985). A toxicidade das diversas espécies de As decresce na seguinte ordem: compostos de As^{3+} inorgânico > compostos de As^{5+} inorgânico > compostos de As^{3+} orgânico > compostos de As^{5+} orgânico (USEPA, 2000).

O risco dos humanos em contato com solos contaminados com As tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas, como resultado da expansão de áreas residenciais em direção a áreas agrícolas (Cohen et al., 1998) e de

atividades de mineração e beneficiamento de metais. Neste último caso, a geração de grandes quantidades de rejeitos e seu inadequado manejo podem contaminar a região e levar à entrada do elemento na cadeia trófica. Nessas áreas contaminadas, crianças que estão frequentemente em contato com o solo podem ingeri-lo involuntariamente, sendo esta considerada a principal via de exposição ao As (Cohen et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Hemond & Solo-Gabriele, 2004; Kwon et al., 2004).

O risco associado à presença de elementos tóxicos, como o As, no ambiente, é influenciado por três fatores: (a) quantidade total de metal presente no ambiente, (b) sua toxicidade e (c) sua biodisponibilidade (Brown et al., 1999).

2.2 Biodisponibilidade (teste *in vivo*)

O fator biodisponibilidade, também chamado de testes *in vivo*, é estudado principalmente pela exposição oral. O termo biodisponibilidade oral ou absoluta é definido como a fração da dose administrada que atinge a circulação sanguínea a partir do trato gastrointestinal (Ruby et al., 1999). A biodisponibilidade de As a partir da ingestão de solos/rejeitos contaminados depende da solubilidade nos fluidos e da absorção gastrointestinal, sendo ambas, solubilidade e absorção, dependentes da espécie química do As, do tamanho da partícula e das condições nutricionais do indivíduo (Valberg et al., 1997).

O maior risco do As é associado às suas formas biodisponíveis, que entram no sistema circulatório de animais e humanos. Existem poucos métodos para quantificar a percentagem de As biodisponível em solos ou para estimar o risco de ingestão acidental de materiais contaminados por ele.

Avaliações de risco desenvolvidas para locais contaminados específicos têm utilizado o pressuposto de que todo o As (i.e., 100%) presente em solos/rejeitos é biodisponível. Entretanto, a biodisponibilidade de As não pode

ser arbitrariamente assumida como sendo o teor total do elemento no material, como confirmado por diversos autores (Ruby et al., 1996; Rodriguez et al., 1999; Yang et al., 2002; Sarkar et al., 2005; Juhasz et al., 2007; Girouard & Zagury, 2009), pois ela é influenciada por uma variedade de parâmetros do solo (Juhasz et al., 2007) e, também, pelas características do indivíduo, como idade, dieta, condições nutricionais (Ruby et al., 1999), local e condições de moradia, entre outros.

A avaliação dos riscos de exposição de humanos ao As, via ingestão de solos, é indireta, utilizando-se métodos de avaliação *in vivo*, que empregam cobaias, como coelhos, suínos, ratos, macacos e outros (Hettiarachchi & Pierzynsky, 2004), ou métodos *in vitro*, que simulam as condições do trato gastrointestinal de humanos por meio do uso de soluções contendo enzimas similares àquelas encontradas naturalmente no trato destes (Ruby et al., 1999).

Os testes de biodisponibilidade de As têm sido empregados em alguns rejeitos de mineração e beneficiamento por meio de ensaios utilizando modelos animais. A escolha do animal a ser testado para estimar a biodisponibilidade de As em crianças exige uma seleção baseada na similaridade de idade e das características anatômicas e fisiológicas. Os suínos, nesses estudos, são preferidos pela similaridade do trato digestivo, das necessidades nutricionais, do desenvolvimento ósseo e do metabolismo mineral ao dos humanos (Dodds, 1982).

Além disso, os suínos, como os humanos, tendem a ingerir alimentos intermitentemente, permitindo que o estômago se evacue periodicamente. Essa fisiologia é coerente com a forma como crianças ingerem materiais contaminados com As, que é provavelmente entre as refeições, quando o pH gástrico é mais baixo. Por isso, suínos imaturos têm sido utilizados com sucesso como um modelo para a função gastrointestinal de crianças (Miller & Ullrey, 1987; Weis & Lavelle, 1991). Os testes *in vivo* são os únicos capazes de medir a

biodisponibilidade de contaminantes presentes em matrizes naturais (Freeman et al., 1992).

A biodisponibilidade relativa (BR) é um termo muito utilizado nos testes *in vivo* e se refere à comparação de biodisponibilidades de diferentes formas de uma substância ou para diferentes meios de exposição contendo a substância (e.g., biodisponibilidade de As em solo via oral em relação à biodisponibilidade de arsenato de sódio via intravenosa) (Ruby et al., 1999).

A biodisponibilidade de As em solos tem sido avaliada em ensaios que foram desenvolvidos inicialmente pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) norte-americana para estimar a biodisponibilidade de chumbo (Pb), utilizando suínos imaturos. Ao longo dos estudos com Pb, a EPA também avaliou a BR de As em quatorze amostras de solos e rejeitos contaminados por As. Grupos de cinco suínos (cinco a seis semanas de idade) foram dosados, duas vezes ao dia, durante quinze dias, com solos ou rejeitos ou com arsenato de sódio. Os dados de As na urina dos animais, para as quatorze amostras, indicaram que a absorção relativa de As no estudo variou de próximo de 0 a 50%, com exceção de duas amostras de Aspen (estado do Colorado, EUA) (Casteel et al., 1997). A grande amplitude nos dados de biodisponibilidade de As foi função das diferentes características das amostras em estudo, além de ser influenciada também pela forma química do elemento presente nas amostras.

Em um dos primeiros estudos de BR de As em solos, coelhos brancos da Nova Zelândia foram utilizados para estudar a absorção oral de As em uma amostra de solo de Anaconda (estado de Montana, EUA) que havia sido afetada principalmente por emissões de uma fundição de cobre (Freeman et al., 1993). Diferentes grupos de coelhos machos e fêmeas (5/sexo/grupo) foram tratados via oral com o solo contaminado por As, como também receberam arsenato de sódio via gavagem (método de introdução de alimentos líquidos no estômago por meio

de um tubo de polivinil colocado pelo nariz ou boca) e injeção intravenosa. Com base nos dados de As na urina, a BR de As estimada foi de 48%.

A BR de As de amostra de solo obtida em área residencial da fundição Anaconda foi determinada em um segundo modelo animal, o macaco (Freeman et al., 1995). Três fêmeas de macacos da espécie *Cynomolgus* receberam uma única dose oral de solo ou de poeira doméstica (coletadas em residências de Anaconda), ou de arsenato de sódio por gavagem ou intravenosa. De acordo com os dados de As na urina, a BR estimada foi de 20% para solo e 28% para poeira doméstica, em relação ao arsenato de sódio (fixado em 100%). Os resultados ajudam a explicar a falta de significância do impacto do As nas crianças de Anaconda, a partir da exposição ao solo.

Os testes *in vivo*, apesar de serem os únicos testes padronizados para quantificar a biodisponibilidade de elementos tóxicos em solos e rejeitos e serem considerados os mais confiáveis (Freeman et al., 1992), são caros, consomem tempo, requerem pessoal especializado no tratamento de animais e necessitam de infraestrutura apropriada para serem executados (Hettiarachchi & Pierzynski, 2004). Uma alternativa sugerida por Ruby et al. (1993) são os testes de bioacessibilidade realizados em ensaios laboratoriais com soluções que simulam as condições físico-químicas do trato gastrointestinal humano e que permitem avaliar a solubilidade de certos elementos contaminantes, caso o material seja ingerido por crianças. Além disso, esses testes são uma alternativa que possibilita a minimização do uso de animais de laboratório em estudos científicos, permitindo resultados tão eficazes quanto aqueles fornecidos por testes *in vivo*.

2.3 Bioacessibilidade (teste *in vitro*)

Bioacessibilidade, também chamada de testes *in vitro*, é o termo adotado para substituir a antiga convicção de que a concentração total de um elemento

pode estimar a resposta biológica de organismos vivos, incluindo humanos (National Research Council - NCR, 2003).

A bioacessibilidade se baseia na fisiologia do trato gastrintestinal e simula as condições da digestão humana. No lugar da saliva, dos sucos gástrico e duodenal naturais são utilizadas soluções artificiais que simulam o meio de cada um dos compartimentos digestivos. Além da composição das soluções, também são considerados a temperatura e o tempo de residência do solo nos órgãos do sistema digestivo (Ruby et al., 1993). Desse modo, a bioacessibilidade oral de uma substância é definida como a fração solúvel nas condições do trato gastrintestinal e que está disponível para absorção (Datta et al., 2007).

As soluções simuladoras do trato gastrintestinal empregadas nos testes de bioacessibilidade contêm enzimas, aminoácidos, sais orgânicos e inorgânicos e ácido clorídrico. Em geral, pepsina e pancreatina são as enzimas utilizadas. A pepsina é uma enzima ácida cuja função é metabolizar proteínas e a pancreatina, secretada no duodeno, é uma mistura de enzimas capazes de metabolizar proteínas, gorduras e carboidratos complexos (Guyton & Hall, 2006).

Com os testes de bioacessibilidade pode-se determinar a quantidade máxima de um contaminante solúvel e passível de ser absorvido via ingestão de material contaminado. Esse tipo de teste reúne características para uma avaliação de risco rápida e confiável, sendo considerado uma boa alternativa, caso métodos *in vivo* não possam ser utilizados em avaliações de risco (Bosso, 2007).

A bioacessibilidade de um contaminante está sendo cada vez mais utilizada como um indicador chave de risco do contaminante para a saúde humana (Adriano et al., 2004). Estudos têm fornecido estimativas da quantidade de As no solo ingerido por crianças (Binder et al., 1986; Calabrese et al., 1989), permitindo, assim, uma avaliação de risco mais precisa nas áreas contaminadas pelo metaloide.

Um método de bioacessibilidade proposto por Ruby et al. (1993) para avaliar o Pb bioacessível, e mais tarde (1996) proposto também para avaliar o As, é denominado de teste de extração baseado na fisiologia (PBET, do inglês *physiologically based extration test*). É um teste *in vitro* para se estimar a biodisponibilidade de metais de uma matriz sólida e integra parâmetros do trato gastrintestinal representativos dos humanos (incluindo pH e substâncias químicas do estômago e intestino delgado, razão solo-solução, contração do estômago e taxas de evacuação do estômago).

Para o Pb, os resultados do PBET foram linearmente correlacionados com resultados de biodisponibilidade a partir de um modelo de rato Sprague Dawley ($r^2=0,93$ entre resultados *in vitro* e *in vivo*). A dissolução do Pb no meio ácido que simula o ambiente do estômago foi fortemente dependente do pH do meio, no qual a dissolução do Pb diminuiu 65% quando o pH do estômago passou de 1,3 para 2,5. Para o As, os resultados do PBET superestimaram os de um estudo de biodisponibilidade em coelho e macaco (2% a 11% de diferença entre os resultados *in vitro* e *in vivo*). A solubilidade de As na simulação do estômago diminuiu apenas 16% durante o mesmo intervalo de pH que o estudado para Pb.

Segundo Ruby et al. (1996), o PBET não foi desenvolvido para substituir os estudos de biodisponibilidade utilizando animais, mas sim para estimar a biodisponibilidade de Pb e As quando resultados de estudo animal não são disponíveis.

Outro método também utilizado para estimar a biodisponibilidade de As em solos e rejeitos é o *In vitro gastrintestinal* (IVG), proposto por Rodriguez et al. (1999). Os autores testaram três diferentes métodos *in vitro* (IVG, IVG-AB e PBET), comparando-os com um método *in vivo* em suínos imaturos para a validação do método. A diferença entre os métodos IVG e IVG-AB é que, no último, o hidróxido de ferro em gel é utilizado para simular a absorção de As.

Todos os três métodos foram conduzidos em condições anaeróbias com agitação adequada e houve duas fases distintas para cada método: a fase gástrica, que envolveu a redução do pH com ácido clorídrico e a fase gastrintestinal, na qual o pH é aumentado com a adição de bicarbonato de sódio. Quinze solos contaminados coletados de áreas de mineração e fundição com teores de As variando de 401 a 17.460 mg kg⁻¹ foram analisados. O As extraído pelo método IVG nas fases gástrica e gastrintestinal foi linearmente correlacionado ($r=0,83$ e $0,82$, respectivamente; $p<0,01$) com As *in vivo*. Similarmente, o método IVG-AB foi linearmente correlacionado ($r=0,79$; $p<0,05$) com o As biodisponível *in vivo*. Todos os métodos IVG extraíram quantidades similares de As e forneceram estimativas de As biodisponível em meio contaminado. O método PBET apenas foi linearmente correlacionado ($r=0,75$; $p<0,05$) para a fase gastrintestinal.

Os métodos *in vitro* não são perfeitos e a escolha de um determinado método baseia-se na sua validação, em geral com base na comparação de resultados de testes *in vivo*, na fidelidade da simulação das condições fisiológicas humanas e, também, na adequação à infraestrutura disponível. É importante ressaltar que os testes de bioacessibilidade não incluem os microrganismos presentes no trato digestivo e não consideram os mecanismos de absorção que ocorrem preferencialmente no epitélio duodenal (Bosso, 2007).

3 OBJETIVOS

Replicar e validar o protocolo de bioacessibilidade *In vitro gastrintestinal* (IVG), com certas modificações, para avaliar a bioacessibilidade de As em amostras estratificadas (0 a 2 e 2 a 10 cm) de materiais provenientes de uma área de mineração de ouro em Paracatu, MG, Brasil, visando obter, de forma inédita no estado, informações pertinentes à bioacessibilidade.

Comparar os teores de As bioacessível (IVG) com os extraídos por Mehlich-1 dos materiais da área de mineração.

Avaliar a exposição humana aos materiais contaminados com As considerando um cenário hipotético de máximo risco (ingestão de solo/substrato/rejeito).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, D. C.; WENZEL, W. W.; VANGRONSVELD, J.; BOLAN, N. S. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. **Geoderma**, Amsterdam, v. 122, n. 2/4, p. 121-142, Oct. 2004.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Cercla priority list of hazardous substances**. Atlanta: ATSDR, 2007. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>>. Acesso em: 10 out. 2009.

ALLOWAY, B. J. The origin of heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B. J. (Ed.). **Heavy metals in soils**. New York: J. Wiley, 1990. p. 29-39.

BASU, A.; MAHATA, J.; GUPTA, S.; GIRI, A. R. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. **Mutation Research**. Reviews in Mutation Research, Amsterdam, v. 488, n. 2, p. 171-194, May 2001.

BINDER, S.; SOKAL, D.; MAUGHAN, D. Estimating the amount of soil ingested by young children through tracer elements. **Archives of Environmental Health**, Washington, v. 41, n. 6, p. 341-345, Nov./Dec. 1986.

BORBA, R. P.; FIQUEIREDO, E. B. R.; MATSCHULLAT, E. J. Geochemical distribution of arsenic in waters, sediments and weathered gold mineralized rocks from iron quadrangle, Brazil. **Environmental Geology**, Berlin, v. 44, n. 1, p. 39-52, May 2003.

BOSSO, S. T. **Bioacessibilidade de chumbo de solos e rejeitos de beneficiamento de minério e sua imobilização como fosfatos**. 2007. 139 p. Tese (Doutorado em Geociência) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BROWN, G. E. J.; FOSTER, A. L.; OSTERGREN, E. Mineral surfaces and bioavailability of heavy metals: a molecular-scale perspective. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 96, n. 7, p. 3388-3395, Mar. 1999.

BROWN, K. G.; ROSS, G. L. Arsenic, drinking water, and health: a position paper of the American council on science and health. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 36, n. 2, p. 162-174, Oct. 2002.

CALABRESE, E.; BARNES, R.; STANEK, E. J. How much soil do young children ingest: an epidemiologic study. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 10, n. 2, p. 123-137, Oct. 1989.

CASTEEL, S. W.; BROWN, L. D.; DUNSMORE, M. E.; WEIS, C. P.; HENNINGSEN, G. M.; HOFFMAN, E.; BRATTIN, W. J.; HAMMON, T. L. **Relative bioavailability of arsenic in mining wastes**. Denver: Environmental Protection Agency, 1997.

CHEN, C.; LIN, L. Human carcinogenicity and atherogenicity induced by chronic exposure to inorganic arsenic. In: NRIAGU, J. O. (Ed.). **Arsenic in environmental**: part II: human health and ecosystem effects. New York: J. Wiley, 1994. p. 109-132.

CHOE, E.; KIM, K. W.; BANG, S.; YOON, I. H.; LEE, K. Y. Qualitative analysis and mapping of heavy metals in an abandoned Au-Ag mine area using NIR spectroscopy. **Environmental Geology**, Berlin, v. 58, n. 3, p. 477-482, Aug. 2009.

COHEN, J. T.; BECK, B. D.; BOWERS, T. S.; BORNSCHEIN, R. L.; CALABRESE, E. J. An arsenic exposure model: probabilistic validation using empirical data. **Human and Ecological Risk Assessment**: an International Journal, Boca Raton, v. 4, n. 2, p. 341-377, Apr. 1998.

DATTA, R.; MAKRIS, K. C.; SARKAR, D. Arsenic fractionation and bioaccessibility in two alkaline Texas soils incubated with sodium arsenate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 52, n. 4, p. 475-482, May 2007.

DODDS, W. J. The pig model for biomedical research. **Federations Proceedings**, Bethesda, v. 41, n. 2, p. 247-256, Feb. 1982.

FREEMAN, G. B.; JOHNSON, J. D.; KILLINGER, J. M.; LIAO, S. C.; FEDER, P. I.; DAVIS, A. O.; RUBY, M. V.; CHANEY, R. L.; LOVRE, S. C.; BERGSTROM, P. D. Bioavailability of arsenic in soil impacted by smelter activities following oral administration in rats. **Fundamental and Applied Toxicology**, Orlando, v. 21, n. 1, p. 83-88, Feb. 1993.

FREEMAN, G. B.; JOHNSON, J. D.; KILLINGER, J. M.; LIAO, S. C.; FEDER, P. I.; DAVIS, A. O.; RUBY, M. V.; CHANEY, R. L.; LOVRE, S. C.; BERGSTROM, P. D. Relative bioavailability of lead from mining waste soil in rats. **Fundamental and Applied Toxicology**, Orlando, v. 19, n. 3, p. 388-398, Mar. 1992.

FREEMAN, G. B.; SCHOOF, R. A.; RUBY, M. V.; DAVIS, A. O.; DILL, J. A.; LIAO, S. C.; LAPIN, C. A.; BERGSTROM, P. D. Bioavailability of arsenic in soil and house dust impacted by smelter activities following oral administration in cynomolgus monkeys. **Fundamental and Applied Toxicology**, Orlando, v. 28, n. 2, p. 215-222, June 1995.

GIROUARD, E.; ZAGURY, G. J. Arsenic bioaccessibility in CCA-contaminated soils: influence of soil properties, arsenic fractionation and particle-size fraction. **Science of the Total Environment**, New York, v. 407, n. 8, p. 2576-2585, Apr. 2009.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1264 p.

HEMOND, H. F.; SOLO-GABRIELE, H. M. Children's exposure to arsenic from CCA-treated wooden decks and playground structures. **Risk Analysis: an International Journal**, New York, v. 24, n. 1, p. 51-64, Feb. 2004.

HETTIARACHCHI, G. M.; PIERZYNSKI, G. M. Soil lead bioavailability and in situ remediation of lead-contaminated soils: a review. **Environmental Progress**, New York, v. 23, n. 1, p. 78-93, Mar. 2004.

HUTTON, M. Human health concerns of lead, mercury, cadmium and arsenic. In: HUTCHINSON, T. C.; MEEMA, K. M. (Ed.). **Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment**. New York: J. Wiley, 1987. p. 53-68.

JUHASZ, A. L.; SMITH, E.; WEBER, J.; REES, M.; ROFE, A.; KUHCEL, T.; SANSOM, L.; NAIDU, R. In vitro assessment of arsenic bioaccessibility in contaminated (anthropogenic and geogenic) soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 69-78, Aug. 2007.

KINROSS GOLD CORPORATION. 2009. Disponível em:
<http://www.kinross.com.br/paracatu.php?id_category=3>. Acesso em: 15 set. 2009.

KWON, E.; ZHANG, H. Q.; WANG, Z. W.; JHANGRI, G. S.; LU, X. F.; FOK, N.; GABOS, S.; LI, X. F.; LE, X. C. Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds. **Environmental Health Perspectives**, Washington, v. 112, n. 14, p. 1375-1380, Oct. 2004.

LEE, J. S.; LEE, S. W.; CHON, H. T.; KIM, K. W. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned myungbong Au – Ag mine site, Korea. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 96, n. 2/3, p. 231-235, Feb./Mar. 2008.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. **Talanta**, Oxford, v. 58, n. 1, p. 201-235, Aug. 2002.

MILLER, E. R.; ULLREY, D. E. The pig as a model for human nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 7, p. 361-382, July 1987.

MORTON, W. E.; DUNNETTE, D. A. Health effects environmental arsenic. In: NRIAGU, J. O. (Ed.). **Arsenic in environment: part II: human health and ecosystem effects**. New York: J. Wiley, 1994. p. 17-34.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Bioavailability of contaminants in soils and sediments: processes, tools and applications**. Washington: National Academy, 2003. 240 p.

POUSCHAT, P.; ZAGURY, G. J. In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA - treated utility poles. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 40, n. 13, p. 4317-4323, Aug. 2006.

RIEUWERTS, J. S.; SEARLE, P.; BUCK, R. Bioaccessible arsenic in the home environment in southwest England. **Science of the Total Environment**, New York, v. 371, n. 1/3, p. 89-98, Dec. 2006.

RODRIGUEZ, R. R.; BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W.; PACE, L. W. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 4, p. 642-649, Jan. 1999.

RUBY, M. V.; DAVIS, A.; LINK, T. E.; SCHOOF, R.; CHANEY, R. L.; FREEMAN, G. B.; BERGSTROM, P. Development of an in vitro screening test to evaluate the in vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 27, n. 13, p. 2870-2877, Dec. 1993.

RUBY, M. V.; DAVIS, A.; SCHOOF, R.; EBERLE, S.; SELLSTONE, C. M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 30, n. 2, p. 422-430, Jan. 1996.

RUBY, M. V.; SCHOOF, R.; BRATTIN, W.; GOLDADE, M.; POST, G.; HARNOIS, M.; MOSBY, D. E.; CASTEEL, S. W.; BERTI, W.; CARPENTER, M.; EDWARDS, D.; CRAGIN, D.; CHAPPELL, W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganic in soil for use in human health risk assessment. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 21, p. 3697-3705, Sept. 1999.

SARKAR, D.; DATTA, R.; SHARMA, S. Fate and bioavailability of arsenic in organo-arsenical pesticide-applied soils. part I: incubation study. **Chemosphere**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 188-195, July 2005.

SMITH, E.; NAIDU, R.; WEBER, J.; JUHASZ, A. L. The impact of sequestration on the bioaccessibility of arsenic in long-term contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, n. 4, p. 773-780, Mar. 2008.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. **Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice**. Boca Raton: CRC, 1985. v. 1.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. National primary drinking water regulations, arsenic and clarifications to compliance and new source contaminants monitorem; proposed rule. **Federal Register**, Washington, v. 65, n. 121, p. 38888-38983, June 2000.

VALBERG, P. A.; BECK, B. D.; BOWERS, J. L.; BERGSTROM, P. D.; BOARDMAN. Issues in setting health-based cleanup levels for arsenic in soil. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, California, v. 26, n. 2, p. 219-229, Oct. 1997.

WEIS, C. P.; LAVELLE, J. M. Characteristics to consider when choosing an animal model for the study of lead bioavailability. **Chemical Speciation and Bioavailability**, Surrey, v. 3, p. 113-119, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **United nations synthesis report on arsenic in drinking water**. Geneva, 2001.

YANG, J. K.; BARNETT, M. O.; JARDINE, P. M.; BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W. Adsorption, sequestration, and bioaccessibility of As (V) in soils. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 36, n. 21, p. 4562-4569, Nov. 2002.

ZAKHAROVA, T.; TATANO, F.; MENSHIKOV, V. Health cancer risk assessment for arsenic exposure in potentially contaminated areas by plants fertilizer: a possible regulatory approach applied to a case study in Moscow Region-Russia. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, California, v. 36, n. 1, p. 22-23, Aug. 2002.

CAPÍTULO 2

REPLICAÇÃO DO PROTOCOLO IVG PARA ESTIMAR ARSÊNIO BIOACESSÍVEL EM MATERIAIS DE ÁREA DE MINERAÇÃO DE OURO EM PARACATU (MG)

1 RESUMO

Atividades de mineração e beneficiamento de metais, como o ouro, podem ser uma significativa fonte de contaminação do ambiente por elementos-traço (e.g., arsênio). O arsênio (As) é um metaloide considerado carcinogênico e sua principal rota de exposição aos seres humanos, no caso de crianças, é via ingestão involuntária de solos contaminados. Considerando a importância dessa via de exposição, testes visando estimar a bioacessibilidade de As (*in vitro*), por serem uma ferramenta reproduzível, simples e de menor custo, podem ser utilizados em uma avaliação de risco à saúde humana. Tais testes são constituídos por ensaios em laboratórios com soluções que simulam as condições do trato gastrointestinal humano, permitindo avaliar a solubilidade de diferentes elementos. Pesquisas com a finalidade de estimar o As bioacessível em áreas com atividades de mineração de ouro, no intuito de uma avaliação de risco à saúde humana, são inéditas no Brasil. O estudo teve como objetivos (i) replicar o protocolo de bioacessibilidade *In vitro gastrointestinal* em amostras de uma área de mineração de ouro no Brasil e em material de referência (NIST 2710), para permitir avaliar a reprodução do protocolo e (ii) comparar os teores de As bioacessível com o extraído por Mehlich-1. Determinaram-se os teores de As total, bioacessível e extraído por Mehlich-1 em amostras coletadas em quatro áreas (RPPN, B2, estéril e rejeito) de uma mineradora em Paracatu (MG). A bioacessibilidade de As encontrada nos materiais da área de mineração foi muito baixa. Os valores de As bioacessível (gástrico e gastrointestinal) encontrados no NIST 2710 se aproximaram dos reportados em outros estudos, validando a reprodução e a aplicação do protocolo. A área RPPN não apresenta riscos à saúde humana por apresentar baixos teores de As e, embora as demais áreas apresentem altos teores de As total, a população não tem acesso livre a esses locais. Correlação entre o As bioacessível, na fase gástrica, e o As extraído por Mehlich-1 foi verificada, possibilitando o uso do método Mehlich-1 para

mensurar o As bioacessível (gástrico), em amostras da área do estudo, na ausência de testes *in vivo/vitro* validados.

2 ABSTRACT

Mining activities and metals processing such as for gold can be a significant source of environmental contamination by trace elements (e.g., arsenic). Arsenic (As) is a metalloid considered carcinogenic and its main route of exposure to humans (e.g., children), is through involuntary ingestion of contaminated soils. Considering the importance of this route of exposure, tests seeking an estimate of As bioaccessibility in soils (*in vitro*), due to their reproducibility, simplicity and low cost, can be a useful tool for human health risk assessments. Such tests are made up of laboratory assays with solutions that simulate the conditions of the human gastrointestinal tract, allowing to evaluate the solubility of different elements. Research data estimating bioaccessible As in gold mining areas with the purpose of human health risk evaluations are unpublished in Brazil. Therefore, we developed this study in order to: (i) replicate the In Vitro Gastrointestinal (IVG) bioaccessibility protocol in samples of a gold mining area in Brazil and in a reference material (NIST 2710), to evaluate the reproducibility of the protocol; and, (ii) to compare soil bioaccessible As concentrations with those extracted by Mehlich-1. Total-, bioaccessible- and Mehlich-1-extracted As levels were determined in samples collected in four areas (hereafter called reference area = Private Natural Reserve, B2 = mined oxidized soil layer, sterile, and pond tailings) of a mining company in Paracatu (MG), Brazil. The bioaccessibility of As found in all materials collected in the mining area was very low. Bioaccessible As concentrations (gastric and gastrointestinal) found in the reference material (NIST 2710) matched those reported in other studies, validating the reproduction and application of the IVG protocol. The reference area does not pose a threat to human health due to its low As concentrations. Although As concentrations found in other areas are high, the population does not have free access to these locals. A good correlation was found between bioaccessible As (in the gastric phase) and As extracted by Mehlich-1, suggesting that the use of the Mehlich-1 method could be possible to measure bioaccessible As (gastric) in samples from the study area, in the absence of validated *in vivo/vitro* tests.

3 INTRODUÇÃO

Atividades de mineração e beneficiamento de metais, como ouro (Au), podem ser uma significativa fonte de contaminação do ambiente por elementos-traço (e.g., arsênio), a partir da exploração do mineral, transporte e refino do minério e disposição de grandes quantidades de rejeitos ao redor das minas. Os contaminantes, neste caso, geralmente, estão presentes no material de origem da rocha.

Em áreas de mineração de Au, geralmente têm sido constatados elevados teores de arsênio (As) (Borba et al., 2003; Lee et al., 2008; Choe et al., 2009). Arsenopirita (FeAsS) é o mineral mais abundante que contém As (Mandal & Suzuki, 2002), cuja presença está geralmente associada a tais áreas de mineração. Quando a arsenopirita é submetida à condição de oxidação, o As contido nela é liberado, tornando-se mais livre no sistema solo.

O As é classificado como o número um na lista de poluentes nocivos à saúde humana pela ATSDR (2007), sendo suas propriedades tóxicas conhecidas há muitos séculos. É comumente aceito que a exposição a elevados teores de formas inorgânicas do elemento está associada com o aumento do risco de câncer de pele e de outros órgãos (WHO, 2000).

O risco à saúde associado à presença de elementos tóxicos no ambiente é influenciado pela quantidade total do elemento presente no ambiente, sua toxicidade e biodisponibilidade (Brown et al., 1999).

A principal rota de exposição de humanos ao As é via ingestão involuntária de solos por crianças, que tem contato frequente com o solo, em regiões com a presença de teores elevados do elemento (Cohen et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Hemond & Solo-Gabriele, 2004; Kwon et al., 2004). As rotas de exposição ao As via inalação e absorção dérmica são consideradas

insignificantes quando comparadas com a ingestão (Know et al., 2004; De Miguel et al., 2007).

Considerando a importância dessa via de exposição para humanos (ingestão de solos) e em função da restrição à realização de estudos utilizando seres humanos como amostras, dois tipos de testes (biodisponibilidade e bioacessibilidade) são atualmente utilizados, no intuito de se estimar a dose de exposição, passo importante em uma avaliação de risco para a saúde humana.

O termo biodisponibilidade é definido como a fração de um contaminante (e.g., As) que chega ao sistema circulatório a partir do trato gastrointestinal, enquanto a bioacessibilidade é a fração do contaminante dissolvida no sistema gastrointestinal e que está potencialmente disponível para absorção (Ruby et al., 1996; Ruby et al., 1999; Koch et al., 2007).

Os testes de biodisponibilidade (*in vivo*), que utilizam cobaias (e.g., suínos juvenis, ratos, coelhos, macacos e cachorros, entre outros) nas avaliações, são os únicos capazes de medir a fração solúvel do contaminante em matrizes naturais (Freeman et al., 1992). No entanto, esses testes são de alto custo e requerem tempo e mão-de-obra especializada para o manejo dos animais e também infraestrutura adequada (Hettiarachchi & Pierzynski, 2004).

Outra alternativa são os testes de bioacessibilidade (*in vitro*), isto é, ensaios em laboratórios com soluções que simulam as condições do trato gastrointestinal humano e que permitem avaliar a solubilidade de elementos contaminantes (Oomen et al., 2002; Girouard & Zagury, 2009; Ruby et al., 1999). Antecessores de tais testes foram originalmente desenvolvidos para avaliar a biodisponibilidade de ferro em alimentos, para estudos de nutrição (Miller et al., 1981).

Os testes *in vitro*, baseados na fisiologia humana, têm sido desenvolvidos como uma ferramenta reproduzível, simples e de menor custo (Oomen et al., 2002) e são atualmente úteis na avaliação de risco à saúde

humana, no caso de existir exposição a locais contaminados, especialmente em caso de uma determinação de urgência, no intuito de uma rápida remediação (Basta et al., 2001; Oomen et al., 2002).

Nos cálculos da dose diária de ingestão de As via solo, geralmente é considerado o teor total do elemento (i.e., 100% biodisponível) para quantificar a entrada de As por esta rota em uma avaliação de risco à saúde humana. Assim, tais cálculos podem, na maioria das vezes, superestimar o resultado final, pois se assume que o total do elemento presente no solo pode entrar na corrente sanguínea. Estudos têm relatado que a bioacessibilidade de As em solos não pode ser arbitrariamente assumida com o valor de 100% (Ruby et al., 1996; Rodriguez et al., 1999; Yang et al., 2002; Sarkar et al., 2005; Juhasz et al., 2007; Girouard & Zagury, 2009). Atualmente, algumas equações para o cálculo da dose diária de ingestão de As têm sido propostas, considerando a fração bioacessível nas estimativas de avaliação de risco, resultando em valores mais próximos do real.

Estudos para determinar o As bioacessível em áreas afetadas por atividades de mineração de ouro, visando uma avaliação de risco à saúde humana e futuras ações de remediação, são inéditos no Brasil.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de: (i) replicar o protocolo de bioacessibilidade *In vitro gastrintestinal*, com certas modificações, em amostras de uma área de mineração de Au e também em material de referência (NIST 2710), para permitir a comparação com outros métodos *in vitro* publicados e (ii) comparar os teores de As bioacessível com o extraído por Mehlich-1.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição do local de estudo e amostragem

As coletas das amostras foram realizadas, em julho de 2008, nas dependências da mina aurífera situada no município de Paracatu, região noroeste do estado de Minas Gerais, Brasil (Figura 1).

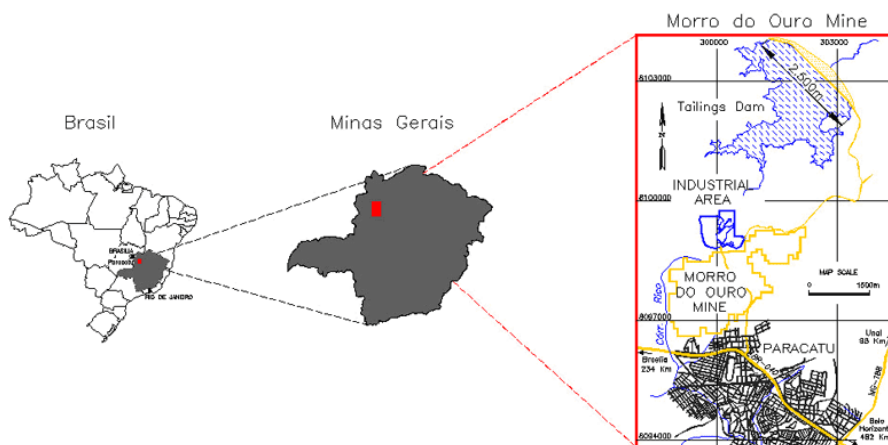


FIGURA 1 Localização da área de mineração de ouro (Paracatu, MG, Brasil).

Duas amostras compostas de material foram coletadas em cada uma das quatro áreas estudadas, na profundidade de 0 a 20 cm. As áreas foram: 1) Reserva Particular de Patrimônio Natural (RPPN), que é a área de reserva permanente da mina com vegetação de Cerrado, abrangendo um total de 73,44 hectares; 2) B2, material pouco intemperizado, do qual se extrai o Au; 3) estéril, material não aproveitável economicamente, devido ao seu baixo teor de Au e 4)

rejeito, área (lagoa de retenção de resíduos) com materiais provenientes do beneficiamento do Au.

As amostras, após coletadas, foram transportadas para o Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), secas ao ar em temperatura ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) e, em seguida, passadas através de peneira de malha com 2 mm de diâmetro de abertura. Todos os procedimentos analíticos foram realizados no DCS.

4.2 Procedimento para determinação dos teores de As

4.2.1 Teor de As total

O teor de As total foi obtido por digestão, de acordo com o método 3051 A, da Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (USEPA, 1998). As amostras foram maceradas em moinho de ágata e passadas através de peneira de náilon de 150 μm de abertura. Efetuou-se a digestão das amostras em forno de micro-ondas MARS-5. Para isso, adicionaram-se 1 g de material sólido (triplicata) e 10 mL de HNO_3 concentrados em tubos de teflon[®], os quais foram hermeticamente fechados para o início do procedimento. Após a digestão, o extrato foi filtrado em filtro tipo Whatman n^o 40, juntamente com 10 mL de água bidestilada.

4.2.2 Teor de As extraído por Mehlich-1

Em erlenmeyers de 125 mL, colocaram-se 10 gramas de material sólido seco ao ar (fração <2 mm) e 100 mL da solução extratora Mehlich-1 ($0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl} + 0,0125 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$). A solução foi agitada, por 5 minutos, em mesa agitadora (150 rpm) e, em seguida, filtrada através de papel filtro Whatman n^o 42. Os extratos filtrados foram preservados sob refrigeração (4°C), até serem analisados.

4.2.3 Teor de As bioacessível (Teste *In vitro* gastrintestinal)

O teste de bioacessibilidade *In vitro gastrintestinal* foi selecionado para este estudo, pois tem sido validado com sucesso para o elemento-traço As, com testes *in vivo* (suínos juvenis) em paralelo, utilizando amostras de áreas de mineração (solos e rejeitos) com elevados teores de As (Rodriguez et al., 1999).

O teste consistiu em determinar o teor de As solúvel em duas fases sequenciais do trato gastrintestinal: i) fase gástrica, em que o pH do meio é ácido e ii) fase intestinal, na qual o pH do ambiente é alcalino.

As amostras dos materiais foram maceradas em moinho de ágata e passadas através de peneira de náilon de 150 μm de abertura, para obter a fração do material que pode ser aderido aos dedos de crianças e, possivelmente, ingerido.

A fase gástrica consistiu na mistura de 1 g de material sólido ($<150 \mu\text{m}$), seco ao ar, com 150 mL da solução gástrica constituída de 1% de pepsina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Cat. No. P7000) em NaCl $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ (p.a., Merck, Darmstadt, Germany). A solução gástrica foi acidificada, antes de se adicionar o material sólido, com HCl concentrado (37%, Merck, Darmstadt, Germany), atingindo $\text{pH}=1,80\pm 0,05$. Os frascos (erlenmeyers de 250 mL) com a solução gástrica e o material sólido foram colocados em banho-maria (tipo Dubnoff com ajuste de temperatura digital e agitação), à temperatura de $37\pm 0,5^\circ\text{C}$ (simulação da temperatura do corpo humano) e deixados sob uma agitação horizontal constante ($100\pm 2 \text{ rpm}$), por 1 hora.

O meio intestinal consistiu no ajuste do pH da solução gástrica para $5,5\pm 0,1$, com NaHCO_3 (p.a., Merck, Darmstadt, Germany). Adicionaram-se à solução 0,525 g de bile extraída de suíno (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, Cat. No. B8631) e 0,053 g de pancreatina (Sigma-Aldrich, Cat. No. P1500). O recipiente com a mistura foi também deixado sobre agitação horizontal ($100\pm 2 \text{ rpm}$), por 1 hora, a $37\pm 0,5^\circ\text{C}$.

Ao final de cada fase (gástrica e intestinal), 10 mL da solução foram coletados e centrifugados a 10.000 rpm, por 15 minutos, sendo o sobrenadante filtrado, através de membrana polietersulfônica (náilon) de 0,45 µm (25 mm de diâmetro), para o interior de tubos de centrífuga de polipropileno com capacidade de 15 mL. Os extratos filtrados foram preservados sob refrigeração (4°C), até serem analisados.

O teor de As (total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível) foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica, com o equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800[®] com atomizador tipo forno de grafite. Os teores mais elevados (>1,0 mg kg⁻¹) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com atomizador tipo chama ar-acetileno.

O percentual de As bioacessível foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{As bioacessível(\%)} = \frac{\text{As } in \text{ vitro}}{\text{As total}} \times 100$$

4.3 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)

Água ultrapura com resistividade de 18,2 MΩ cm (Sistema de Água Milli-Q) foi utilizada no preparo das soluções. Todas as vidrarias, frascos e materiais empregados na pesquisa foram tratados com uma solução de HNO₃ a 10% por 24 horas e depois enxaguados três vezes com água destilada antes de serem usados.

As amostras dos materiais foram analisadas em triplicata, com exceção dos materiais certificados nos teores de As total (duplicata). Em cada bateria de amostras procedidas, uma amostra em branco foi conduzida em paralelo, para controle de qualidade das análises. Os teores de As em todas as amostras em branco nos procedimentos analíticos foram sempre menores que o limite de detecção calculado para o método, utilizando-se forno de grafite (4 µg de As L⁻¹).

Para avaliar a reprodução e a acurácia/precisão dos procedimentos analíticos nas determinações dos teores de As e também permitir a comparação com outros resultados publicados, utilizaram-se, nas determinações analíticas, os materiais de referência certificados, NIST 2710 (*Montana Soil, Highly Elevated Trace Element Concentrations*) e NIST 2709 (*San Joaquin Soil, Baseline Trace Element Concentrations*). Os dois materiais de referência foram analisados pelo método USEPA 3051 A (As total) e apenas o NIST 2710 foi testado pelo método IVG (As bioacessível). O material NIST 2710 tem sido utilizado em outros estudos de bioacessibilidade de As (Hamel et al., 1998; Ellickson et al., 2001; Koch et al., 2005, 2007; Pouschat & Zagury, 2006; Girouard & Zagury, 2009), não ocorrendo o mesmo para o NIST 2709, dados os baixos teores de elementos-traço encontrados neste último.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As percentagens de recuperação dos teores de As total para os materiais de referência certificados NIST 2710 ($626 \pm 38 \text{ mg kg}^{-1}$) e NIST 2709 ($17,7 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$) foram de $89,86 \pm 0,76$ e $91,05 \pm 2,03\%$, respectivamente (Figura 2). Os desvios padrões relativos (coeficiente de variação) para as amostras (duplicata) foram de 0,85% (NIST 2710) e 2,23% (NIST 2709). Isso indicou uma excelente acurácia e precisão do método.

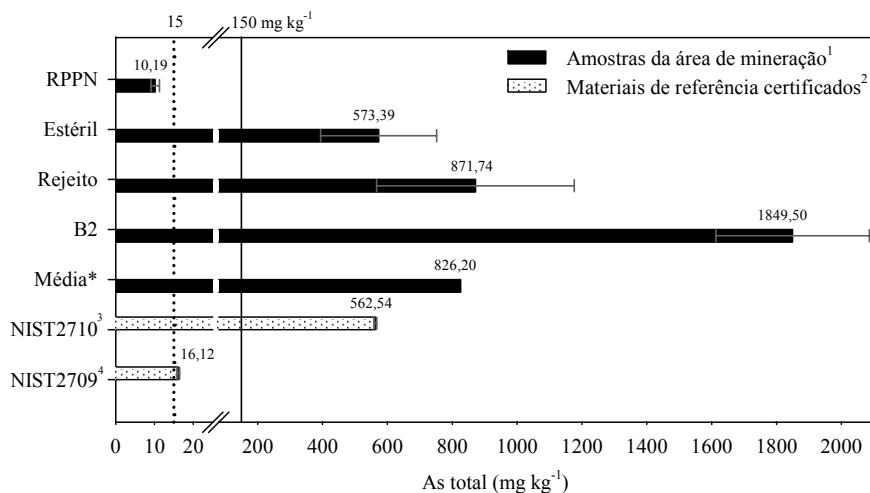


FIGURA 2 Teor de As total em amostras da área de mineração de ouro em Paracatu, MG e em materiais de referência certificados. — e , valor de intervenção industrial para As em solos e limite máximo de As, sem risco à saúde, para solos estabelecidos pela CETESB-SP, respectivamente (Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Básico do Estado de São Paulo - CETESB, 2005). *materiais da área de mineração. ^{1,2} tamanho de partícula <150 μm e <74 μm , respectivamente. ^{3,4} valor certificado (626 ± 38 e $17,7\pm 0,8$ mg kg⁻¹).

No presente estudo, o As bioacessível no NIST 2710 foi de $28,41\pm 2,13\%$ (fase gástrica) e de $27,41\pm 1,55\%$ (gastrintestinal) (Tabela 1). Tais valores foram muito próximos dos reportados por Pouschat & Zagury (2006) ($27,6\pm 0,4$ gástrico e $25,2\pm 0,3\%$ gastrintestinal), Girouard & Zagury (2009) ($25,7\pm 4,7$ gástrico e $23,4\pm 3\%$ gastrintestinal), ambos utilizando o método *In vitro gastrintestinal*, Koch et al. (2005) ($28\pm 17\%$ gástrico) e Koch et al. (2007) (36% gástrico).

Hamel et al. (1998), utilizando o método US Pharmacopoeia (USP), obtiveram o valor de As bioacessível de $41 \pm 18\%$ para o NIST 2710, com a razão solução:sólido de 100:1. Considerando a amplitude do desvio padrão ($\pm 18\%$) do resultado encontrado por esses autores, todos os valores médios de As bioacessível supracitados estão dentro da faixa. Em experimentos *in vivo*, usando, como cobaias, ratos Sprague Dawley, foi encontrado o valor de As biodisponível de $37,8\%$ para o mesmo material sólido (Ellickson et al., 2001).

TABELA 1 Bioacessibilidade de As em amostras coletadas em área de mineração de ouro no município de Paracatu, MG e em material de referência certificado.

Material ²	As bioacessível (%) ¹	
	Gástrica	Gastrintestinal
RPPN	< LD	< LD
Estéril	$2,46 \pm 1,04$	$3,52 \pm 1,80$
Rejeito	$2,68 \pm 1,53$	$2,48 \pm 0,64$
B2	$0,88 \pm 0,17$	$1,35 \pm 0,26$
Média ³	2,17	2,69
NIST 2710	$28,41 \pm 2,13$	$27,41 \pm 1,55$

<LD = menor que o limite de detecção ($4 \mu\text{g L}^{-1}$). ¹valor médio \pm desvio padrão (n=2, exceto NIST n=3). ²tamanho de partícula <150 μm , exceto para o material de referência certificado (<74 μm). ³materiais da área de mineração, exceto RPPN.

As amostras dos materiais da área de mineração apresentaram ampla faixa de variação nos valores médios de As total, variando de 10,19 a $1.849,50 \text{ mg kg}^{-1}$ (média de $826,20 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figura 2). Além da enorme variabilidade dos teores entre os diferentes materiais (solo, substratos e rejeito), constatou-se elevada variabilidade entre as amostras de um mesmo local. Os desvios padrões relativos para os materiais foram de 10,60% (RPPN), 31,2% (estéril), 34,95% (rejeito) e 12,79% (B2). Isso demonstra a enorme

heterogeneidade desses materiais nas suas condições de campo, o que ocorre principalmente com materiais que estão sujeitos à movimentação e ao revolvimento constantes (e.g., estéril, rejeito e B2).

As amostras da área RPPN (único solo do estudo utilizado como amostra controle) apresentaram valor médio de As total de aproximadamente 1,5 vez menor do que o limite máximo para solos (15 mg kg^{-1}), sem risco à saúde humana, estabelecido pela CETESB (2005) e de, aproximadamente, 2 vezes menor que o do Guia de Referência da ATSDR, para população infantil (20 mg kg^{-1}) (ATSDR, 2007) (Figura 2).

O mesmo solo também apresentou o menor valor médio de As extraído por Mehlich-1 ($0,08 \text{ mg kg}^{-1}$) e bioacessível (<LD) (Figura 3). A área RPPN vem sendo visitada ao longo do ano por crianças de diversas escolas da região. Desse modo, pode-se inferir que, como os valores de As nesta localidade são baixos, a exposição das crianças nessa área não ocasionaria riscos à saúde, mesmo porque as visitas são esporádicas.

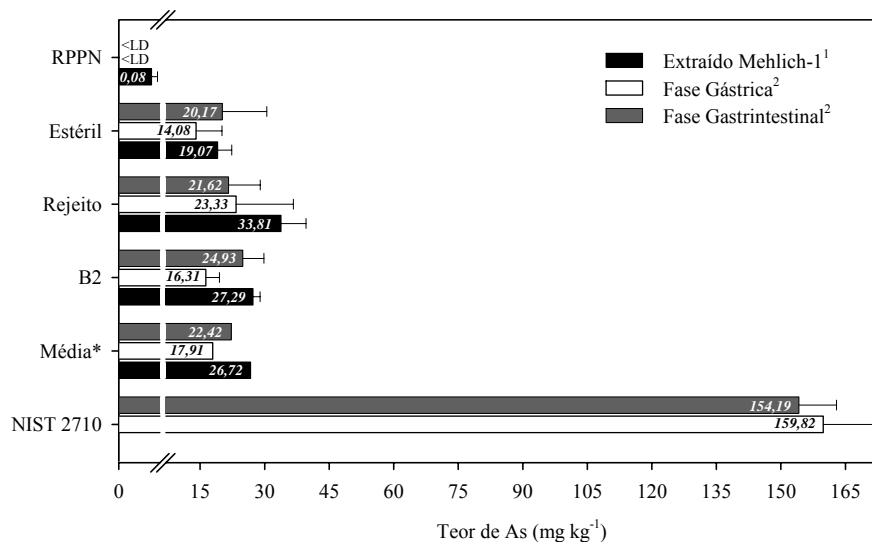


FIGURA 3 Teor de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível em amostras da área de mineração de ouro em Paracatu, MG e As bioacessível em material de referência certificado. *materiais da área de mineração, exceto RPPN. <LD = menor que o limite de detecção ($4 \mu\text{g L}^{-1}$). ^{1,2}tamanho de partícula <2 mm e <150 μm , exceto material de referência certificado (<74 μm), respectivamente.

Valores de referência para interpretar resultados de análises de elementos-traço em rejeitos de mineração e substratos são escassos (Silva et al., 2004). Assim, no intuito de avaliar o grau de contaminação dos materiais avaliados no presente estudo, tomou-se como base o valor de intervenção industrial para As em solos (150 mg kg^{-1}) sugerido pela CETESB (2005). Os teores de As médio no estéril, rejeito e B2 foram superiores, aproximadamente, 4, 6 e 12 vezes, respectivamente, ao valor de intervenção industrial da CETESB (Figura 2).

Desse modo, para a disposição final desses materiais, há a necessidade de um planejamento adequado para que os elementos contaminantes presentes

nos materiais não contaminem o ambiente. Apesar dos elevados teores de As total nos materiais dessas áreas, a população não tem acesso livre a essas localidades, não ocorrendo, portanto, riscos pela ausência da exposição.

Os valores médios de As bioacessível (%) das amostras, tanto da fase gástrica, variando de <LD a $2,68 \pm 1,53$ (média de 2,17), como da gastrintestinal, variando de <LD a $3,52 \pm 1,80$ (média de 2,69), foram muito baixos (Tabela 1), quando comparados àqueles encontrados em outros estudos de bioacessibilidade.

Pouschat & Zagury (2006); Sarkar et al. (2007); Girouard & Zagury (2009), utilizando o teste IVG em amostras de materiais com elevados teores de As, encontraram amplitudes (valor mínimo e máximo) de As bioacessível (%) na fase gastrintestinal de $25 \pm 2,7$ a $66,6 \pm 2,3$ (média de $40,7 \pm 14,9$), 3 a 90 (média de 37), e $17 \pm 0,4$ a $46,9 \pm 1,1$ (média de $30,5 \pm 3,6$), respectivamente.

Rieuwerts et al. (2006), analisando amostras de poeira doméstica (em carpete) e de solo de jardim, coletadas em casas ao redor de uma área de mineração inativa no sudoeste da Inglaterra, encontraram teores de As total máximos de 486 mg kg^{-1} (poeira doméstica) e 471 mg kg^{-1} (solo de jardim). O As bioacessível (método PBET) foi determinado em duas amostras de poeira doméstica e de solo de jardim. Os valores obtidos na fase gastrintestinal, para as duas amostras, foram de 28,7% e 58,6% (poeira doméstica) e de 32,1% e 37,5% (solo de jardim).

Diferentes valores de bioacessibilidade de As em solos/rejeitos são influenciados pela ampla variação de suas propriedades, tais como teores de óxidos de Fe, Mn e Al, teores de P, mineralogia, pH, carbono orgânico total, teores de argila, entre outros, como relatado em alguns estudos (Yang et al., 2002; Ruby, 2004; Pouschat & Zagury, 2006; Sarkar et al., 2007; Girouard & Zagury, 2009).

Os teores de As bioacessível entre as amostras (estéril, rejeito e B2) mantiveram-se próximos (Figura 3), mesmo havendo grande variabilidade dos

teores totais de As (Figura 2). Em um cálculo de avaliação de risco comparando dois materiais, B2 (1.849,5 mg As kg⁻¹ e 1,35% bioacessível) e estéril (573,39 mg As kg⁻¹ e 3,52% bioacessível), considerando os dois parâmetros (teor total e percentual bioacessível) e fixando os demais para ambas as amostras, observa-se que os valores estimados são aproximadamente equivalentes (entre 20 e 25 mg de As kg⁻¹ estariam na forma bioacessível). Situação muito diferente seria encontrada considerando apenas o teor total do elemento (100% biodisponível) nos cálculos das estimativas ou fixando um mesmo valor bioacessível para ambas as amostras, como é feito para algumas equações de avaliação de risco para o Pb (30% biodisponível) (USEPA, 2002).

Vale ressaltar que, mesmo havendo extensões significativas de minas auríferas no Brasil e de ter sido constatada a presença de elevados teores de As ao redor delas, estudos de bioacessibilidade de As em áreas de mineração de ouro, até o momento, são inéditos no Brasil. Desse modo, os dados do presente estudo não podem ser comparados com os de outros realizados em áreas no país.

Observou-se que o valor de As bioacessível médio na fase gastrintestinal (2,69%) foi ligeiramente maior que o da fase gástrica (2,17%) (Tabela 1). Estudos realizados por Pouschat & Zagury (2006); Sarkar et al. (2007); Girouard & Zagury (2009) apresentaram a mesma tendência, em que as diferenças entre as fases foram de 4,5%, 4,36% e 3,6%, respectivamente. Tendência inversa ocorreu para o NIST 2710, em que o As bioacessível foi ligeiramente maior na fase gástrica (Tabela 1). Pouschat & Zagury (2006), em três amostras de solo referência (NIST 2710, NIST 2711 e CRM 025) e Girouard & Zagury (2009) utilizando o NIST 2710, encontraram a mesma tendência.

A média dos teores de As médio extraído por Mehlich-1 dos materiais (estéril, rejeito e B2) foi de 26,72 mg kg⁻¹ e o bioacessível gastrintestinal de 22,42 mg kg⁻¹ (Figura 3). Observa-se que a média dos teores para os dois métodos é muito próxima. Análises de correlação paramétricas de Pearson entre

os teores de As bioacessível e extraído por Mehlich-1 mostraram a existência de correlação significativa e positiva somente para a fase gástrica ($r=0,78$; $p<0,05$).

Portanto, como o método Mehlich-1 é uma análise de rotina simples e de baixo custo, em comparação com os testes *in vivo* e *in vitro*, há a possibilidade do uso desse método para estimar o As bioacessível (fase gástrica) em amostras da área de mineração do presente estudo, em caso da impossibilidade do uso de um teste *in vivo* ou *in vitro* validado.

6 CONCLUSÕES

Considerando os resultados reportados de As bioacessível para o material NIST 2710 pelos autores, pode-se afirmar que a replicação e a acurácia/precisão do protocolo IVG foram válidos, podendo ser aplicadas em amostras de área de mineração de ouro situada no Brasil.

A área RPPN não apresenta riscos à saúde humana por seus baixos teores de As. Às demais áreas do estudo, apesar dos altos teores de As total encontrados, a população não tem acesso livre e o percentual de As bioacessível foi muito baixo.

Houve correlação entre os teores de As extraído por Mehlich-1 e o bioacessível na fase gástrica. Apesar da forte correlação entre os métodos, há, ainda, a necessidade de mais pesquisas envolvendo maior número de amostras com amplas faixas de teores de As total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível, para que o método de menor custo (rotina) possa ser aplicado com maior segurança em outras áreas de mineração de ouro do Brasil.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Cercla priority list of hazardous substances**. Atlanta: ATSDR, 2007. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>>. Acesso em: 10 out. 2009.

BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W.; RODRIGUEZ, R. R. **Final report:** development of chemical methods to assess the bioavailability of arsenic in contaminated media. Columbia: University of Missouri, 2001. Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/ncer_abstracts/index.cfm/fuseaction/display.abstractDetail/abstract/676>. Acesso em: 20 set. 2009.

BORBA, R. P.; FIQUEIREDO, E. B. R.; MATSCHULLAT, E. J. Geochemical distribution of arsenic in waters, sediments and weathered gold mineralized rocks from iron quadrangle, Brazil. **Environmental Geology**, Berlin, v. 44, n. 1, p. 39-52, May 2003.

BROWN, G. E. J.; FOSTER, A. L.; OSTERGREN, E. Mineral surfaces and bioavailability of heavy metals: a molecular-scale perspective. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 96, n. 7, p. 3388-3395, Mar. 1999.

CHOE, E.; KIM, K. W.; BANG, S.; YOON, I. H.; LEE, K. Y. Qualitative analysis and mapping of heavy metals in an abandoned Au-Ag mine area using NIR spectroscopy. **Environmental Geology**, Berlin, v. 58, n. 3, p. 477-482, Aug. 2009.

COHEN, J. T.; BECK, B. D.; BOWERS, T. S.; BORNSCHEIN, R. L.; CALABRESE, E. J. An arsenic exposure model: probabilistic validation using empirical data. **Human and Ecological Risk Assessment: an International Journal**, Boca Raton, v. 4, n. 2, p. 341-377, Apr. 1998.

COMPANHIA ESTADUAL DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 25 set. 2009.

DE MIGUEL, E.; IRIBARREN, I.; CHACON, E.; ORDONEZ, A.; CHARLESWORTH, S. Risk-based evaluation of the exposure of children to trace elements in playgrounds in Madrid (Spain). **Chemosphere**, Oxford, v. 66, n. 3, p. 505-513, Jan. 2007.

ELICKSON, K. M.; MEEKER, R. J.; GALLO, M. A.; BUCKLEY, B. T.; LIOY, P. J. Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 40, n. 1, p. 128-135, Jan. 2001.

FREEMAN, G. B.; JOHNSON, J. D.; KILLINGER, J. M.; LIAO, S. C.; FEDER, P. I.; DAVIS, A. O.; RUBY, M. V.; CHANEY, R. L.; LOVRE, S. C.; BERGSTROM, P. D. Relative bioavailability of lead from mining waste soil in rats. **Fundamental and Applied Toxicology**, Orlando, v. 19, n. 3, p. 388-398, Mar. 1992.

GIROUARD, E.; ZAGURY, G. J. Arsenic bioaccessibility in CCA-contaminated soils: influence of soil properties, arsenic fractionation and particle-size fraction. **Science of the Total Environment**, New York, v. 407, n. 8, p. 2576-2585, Apr. 2009.

HAMEL, S. C.; BUCKLEY, B.; LIOY, P. J. Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 32, n. 3, p. 358-362, Feb. 1998.

HEMOND, H. F.; SOLO-GABRIELE, H. M. Children's exposure to arsenic from CCA-treated wooden decks and playground structures. **Risk Analysis: an International Journal**, New York, v. 24, n. 1, p. 51-64, Feb. 2004.

HETTIARACHCHI, G. M.; PIERZYNSKI, G. M. Soil lead bioavailability and in situ remediation of lead-contaminated soils: a review. **Environmental Progress**, New York, v. 23, n. 1, p. 78-93, Mar. 2004.

JUHASZ, A. L.; SMITH, E.; WEBER, J.; REES, M.; ROFE, A.; KUHCEL, T.; SANSOM, L.; NAIDU, R. In vitro assessment of arsenic bioaccessibility in contaminated (anthropogenic and geogenic) soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 69-78, Aug. 2007.

KOCH, I.; DUSO, A.; HAUG, C.; MISKELLY, C.; SOMMERVILLE, M.; SMITH, P.; REIMER, K. J. Distinguishing between naturally and anthropogenically elevated arsenic at an abandoned arctic military site. **Environmental Forensics**, London, v. 6, n. 4, p. 335-344, Dec. 2005.

KOCH, I.; SYLVESTER, S.; LAI, V. W. M.; OWEN, A.; REIMER, K. J.; CULLEN, W. R. Bioaccessibility and excretion of arsenic in *Niu Huang Jie Du Pian* pills. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 222, n. 3, p. 357-364, Aug. 2007.

KWON, E.; ZHANG, H. Q.; WANG, Z. W.; JHANGRI, G. S.; LU, X. F.; FOK, N.; GABOS, S.; LI, X. F.; LE, X. C. Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds. **Environmental Health Perspectives**, Washington, v. 112, n. 14, p. 1375-1380, Oct. 2004.

LEE, J. S.; LEE, S. W.; CHON, H. T.; KIM, K. W. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned myungbong Au – Ag mine site, Korea. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 96, n. 2/3, p. 231-235, Feb./Mar. 2008.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. **Talanta**, Oxford, v. 58, n. 1, p. 201-235, Aug. 2002.

MILLER, D. D.; SHRICKER, B. R.; RASMUSSEN, R. R.; VAN CAMPEN, D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 34, p. 2248-2256, Oct. 1981.

OOMEN, A. G.; HACK, A.; MINEKUS, M.; ZEIJDNER, E.; CORNELIS, S. C.; SCHOETERS, G.; VERSTRAETE, W.; WIELE, T. van de; WRAGG, J.; ROMPELBERG, C. J. M.; SIPS, A.; WIJNEN, J. H. van. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 36, n. 15, p. 3326-3334, Aug. 2002.

POUSCHAT, P.; ZAGURY, G. J. In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA - treated utility poles. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 40, n. 13, p. 4317-4323, Aug. 2006.

RIEUWERTS, J. S.; SEARLE, P.; BUCK, R. Bioaccessible arsenic in the home environment in southwest England. **Science of the Total Environment**, New York, v. 371, n. 1/3, p. 89-98, Dec. 2006.

RODRIGUEZ, R. R.; BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W.; PACE, L. W. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 4, p. 642-649, Jan. 1999.

RUBY, M. V. Bioavailability of soil-borne chemicals: abiotic assessment tools. **Human and Ecological Risk Assessment**, Boca Raton, v. 10, n. 4, p. 647-656, Aug. 2004.

RUBY, M. V.; DAVIS, A.; SCHOOF, R.; EBERLE, S.; SELLSTONE, C. M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 30, n. 2, p. 422-430, Jan. 1996.

RUBY, M. V.; SCHOOF, R.; BRATTIN, W.; GOLDADE, M.; POST, G.; HARNOIS, M.; MOSBY, D. E.; CASTEEL, S. W.; BERTI, W.; CARPENTER, M.; EDWARDS, D.; CRAGIN, D.; CHAPPELL, W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganic in soil for use in human health risk assessment. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 21, p. 3697-3705, Sept. 1999.

SARKAR, D.; DATTA, R.; SHARMA, S. Fate and bioavailability of arsenic in organo-arsenical pesticide-applied soils: part I: incubation study. **Chemosphere**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 188-195, July 2005.

SARKAR, D.; MAKRIS, K. C.; PARRA-NOONAN, M. T.; DATTA, R. Effect of soil properties on arsenic fractionation and bioaccessibility in cattle and sheep dipping vat sites. **Environment International**, New York, v. 33, n. 2, p. 164-169, Feb. 2007.

SILVA, S. R.; PROCÓPIO, S. O.; QUEIROZ, T. F. N.; DIAS, L. E. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p. 189-196, jan./fev. 2004.

UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Health consultation:** evaluation of soil contamination. Atlanta, 2007. 27 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3051A: microwave assisted acid digest of sediments, sludges, soils and oils. In: _____. **SW-846:** test methods for evaluation solid waste physical and chemical methods. Washington: Office of Solid Waste/Environmental Protection Agency, 1998. p. 1-20.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Reference manual:** documentation of updates for the integrated exposure uptake biokinetic model for lead in children (IEUBK). Washington, 2002. 22 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Air quality guidelines.** 2. ed. Copenhagen, 2000.

YANG, J. K.; BARNETT, M. O.; JARDINE, P. M.; BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W. Adsorption, sequestration, and bioaccessibility of As (V) in soils. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 36, n. 21, p. 4562-4569, Nov. 2002.

CAPÍTULO 3

BIOACESSIBILIDADE E AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE PARA ARSÊNIO EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE OURO, PARACATU (MG)

1 RESUMO

Em solos, substratos e rejeitos de áreas de mineração de ouro do Brasil têm sido mensurados elevados teores de arsênio (As) total, porém, testes de bioacessibilidade para o elemento ainda não têm sido realizados nesses materiais. Estudos desta natureza podem indicar o risco de contaminação pela exposição dos habitantes das regiões próximas a essas áreas. Diante do exposto, o estudo foi realizado com os objetivos de: (i) avaliar a bioacessibilidade de As em amostras estratificadas de uma área de mineração de ouro; (ii) comparar os teores de As bioacessível com os extraídos por Mehlich-1 e (iii) avaliar a exposição humana aos materiais contaminados. Nas dependências de uma mina aurífera situada no município de Paracatu (MG), foram coletadas cinco amostras compostas em cada área (RPPN, Exp. B1, B1 e estéril) e em duas profundidades distintas (0 a 2 e 2 a 10 cm). Adicionalmente, na lagoa de retenção de rejeitos, foram retiradas, em dois pontos, duas porções significativas do material; de uma delas retiraram-se duas amostras e, em outra, três amostras, compondo cinco amostras para serem analisadas. Determinaram-se, em todas as amostras, os teores de As total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível (*In vitro gastrintestinal*). A estimativa da ingestão diária de As foi calculada para um cenário hipotético de risco, considerando-se a ingestão involuntária de solo por crianças como sendo a rota mais relevante. Nas amostras da área de mineração foram constatados altos teores de As total e baixos percentuais de As bioacessível. A área RPPN (controle) apresentou os menores teores de As total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível, enquanto o rejeito apresentou os maiores teores. As amostras coletadas na profundidade de 2 a 10 cm, em comparação com as de 0 a 2 cm, apresentaram os maiores teores médios de As total e bioacessível (gástrico e gastrintestinal) e o inverso ocorreu para os teores de As extraído por Mehlich-1. Os valores estimados da taxa de ingestão de As para as amostras selecionadas foram baixos, exceto para o material rejeito, o qual foi acima de $0,3 \mu\text{g de As kg}^{-1} \text{ BW dia}^{-1}$. O cálculo da dose de exposição, para o cenário hipotético de risco, indica que, com exceção do rejeito, os materiais das

áreas contribuem, no máximo, pela rota de exposição em questão, com 9,5% na entrada de As máxima permitida ($0,3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ BW dia}^{-1}$). Correlação significativa entre os teores de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível foi verificada para a fase gástrica, nas duas profundidades, e gastrintestinal para a profundidade de 2 a 10 cm.

2 ABSTRACT

High concentrations of total arsenic (As) have been measured in soils, substrates and mine tailings of gold mining areas of Brazil. However, bioaccessibility tests for As have not yet been conducted in those materials. Such studies are useful for estimating risks for people living nearby gold-mining areas and might help decision makers and regulators seeking improvements in public health. This study aimed at: (i) evaluating the bioaccessibility of As in stratified samples from a gold mining area; (ii) comparing the bioaccessible levels of As with those extracted by Mehlich-1; and, (iii) evaluating human exposure to As-contaminated materials. Five composite samples were collected from different materials found in a gold mine area located in Paracatu (MG), Brazil (hereafter called reference area = Private Natural Reserve, B1 = mined oxidized soil layer, Exp. B1 = experiment over B1, and sterile) and at two different depths (0 to 2 and 2 to 10 cm). In addition, in the waste retention pond (pond tailings) two significant portions of the material were taken from two points. From one portion, two samples were taken and from the other, three samples, comprising five samples to be analyzed. Total, Mehlich-1 extracted, and bioaccessible (In Vitro Gastrointestinal) As concentrations were determined in all samples. An estimate of the daily As ingestion was calculated using a hypothetical risk scenario considering the involuntary ingestion of soil by children as being the most relevant route of exposure. High total As concentrations and low percentage of bioaccessible As were verified in all samples from the mining area. The reference area (control) presented the lowest total, Mehlich-1 extracted and bioaccessible As concentrations, while the pond tailings presented the highest. Samples collected at the depth of 2 to 10 cm presented higher concentrations of total and bioaccessible (gastric and gastrointestinal) As when compared with those from 0 to 2 cm. The opposite occurred for As extracted by Mehlich-1. The estimated values for the As ingestion rate from the selected samples were low, except for the pond tailing material, which was above $0.3 \mu\text{g of As kg}^{-1} \text{ BW day}^{-1}$. The calculated dose of exposure for the hypothetical risk scenario indicated that, except for the pond tailings, in all other areas the exposure route considering soil ingestion contributed at most to 9.5% of the maximum allowed As ingestion per day ($0.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ BW day}^{-1}$). Correlation between As levels extracted by Mehlich-1 and bioaccessible As was verified for the gastric phase, at the two sampling depths, and for the gastrointestinal phase for samples collected at 2 to 10 cm.

3 INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é classificado como o número um na lista de poluentes prioritários nocivos à saúde humana pela ATSDR (2007). Embora seja tóxico e carcinogênico, o elemento é utilizado em diversos ramos, tais como na indústria, na medicina, na formulação de pesticida e inseticida, em aditivos de alimentos animais e na conservação de madeira (Mandal & Suzuki, 2002).

Têm sido constatado elevados teores de As no ambiente (Rodriguez et al., 1999; Ruby et al., 1999; Pouschat & Zagury, 2006; Rieuwerts et al., 2006; Sarkar et al., 2007a; Smith et al., 2008; Girouard & Zagury, 2009), especialmente ao redor de áreas de mineração de ouro (Borba et al., 2003; Juhasz et al., 2007; Lee et al., 2008; Choe et al., 2009), podendo apresentar riscos para a saúde humana.

Atividades de mineração e beneficiamento de metais promovem geração de grandes quantidades de rejeitos e o seu inadequado manejo pode contaminar a região e levar à entrada do elemento na cadeia trófica. Nessas áreas contaminadas, crianças que estão frequentemente em contato com o solo podem ingeri-lo involuntariamente, sendo esta considerada a principal via de exposição ao As (Cohen et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Hemond & Solo-Gabriele, 2004; Kwon et al., 2004).

A alta toxicidade do As, para homens e animais, tem tornado crescente a preocupação com a contaminação do meio ambiente com essa substância. Em uma avaliação de risco à saúde humana, considerando como rota de exposição a ingestão de solo contaminado, testes *in vivo* utilizando cobaias (i.e., ratos, coelhos, macacos, suínos, entre outros) têm sido utilizados no intuito de estimar a quantidade de As (fração do contaminante) que chega ao sistema circulatório a partir do trato gastrointestinal (biodisponível) (Ruby et al., 1996, 1999; Koch et al., 2007).

Os testes de bioacessibilidade (ensaios *in vitro*), que simulam as condições físico-químicas gastrintestinais humanas e mensuram a fração do contaminante potencialmente solúvel no trato gastrintestinal e disponível para ser absorvido (Ruby et al., 1996, 1999; Koch et al., 2007), constituem uma ferramenta rápida, simples e de baixo custo em comparação com os testes *in vivo* (Oomen et al., 2002).

Em materiais (solos, substratos e rejeitos) de áreas de mineração de ouro do Brasil, têm sido mensurados elevados teores de As total, porém, testes de bioacessibilidade para esse elemento ainda não têm sido realizados para essas áreas. Em geral, tais áreas de mineração estão em regiões bastante povoadas, com cidades localizadas bem próximas das minas auríferas.

Diante do exposto, os estudos de bioacessibilidade de As, em materiais de área impactada por atividades de mineração, visando obter, de forma inédita no estado de Minas Gerais, informações pertinentes à bioacessibilidade adquirem elevada importância. Estudos dessa natureza podem dar um indicativo de risco de contaminação pela exposição dos habitantes próximos a essas áreas, podendo, inclusive, nortear políticas públicas neste sentido.

O presente estudo foi realizado com os objetivos de (i) avaliar a bioacessibilidade de As (método IVG) em amostras estratificadas (0 a 2 e 2 a 10 cm) de materiais provenientes de uma área de mineração de ouro; (ii) comparar os teores de As bioacessível com o extraído por Mehlich-1 nesses materiais e (iii) avaliar o risco da exposição humana aos materiais contaminados com As (ingestão), considerando um cenário hipotético de máximo risco.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição do local de estudo e da amostragem

As amostras foram coletadas, em dezembro de 2008, nas dependências da mina aurífera situada no município de Paracatu, região noroeste do estado de Minas Gerais, Brasil.

Cinco amostras compostas de material foram coletadas manualmente em cada área, em duas profundidades (0 a 2 cm e 2 a 10 cm), utilizando uma pá reta. Na lagoa de retenção de rejeitos, foram retiradas, em dois pontos, duas porções significativas do material; de uma delas retiraram-se duas amostras e, em outra, três amostras, compondo cinco amostras, conforme as outras áreas, porém, sem profundidades distintas.

As áreas de coletas foram: 1) Reserva Particular de Patrimônio Natural (RPPN), a qual é a área de reserva permanente da mina com vegetação de Cerrado, abrangendo um total de 73,44 hectares; 2) Experimento de Reabilitação de Áreas Mineradas (Exp. B1), experimento instalado em maio de 2004 sobre material B1, visando testes de cobertura e revegetação da área com espécies vegetais; 3) B1, substrato de mineração com baixo teor de ouro e que ainda é utilizado no processo de extração. Este local de coleta está situado em uma das extremidades da área de mineração, existindo, nas suas proximidades, muitas residências; 4) estéril, material não aproveitável economicamente devido ao seu baixo teor de Au e 5) rejeito, amostra obtida da lagoa de retenção de resíduos com materiais provenientes do beneficiamento do Au.

As amostras coletadas foram transportadas para o Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), secas ao ar à temperatura ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) e, em seguida, passadas através de peneira de 2 mm de diâmetro de malha. Todos os procedimentos analíticos foram realizados no DCS.

4.2 Procedimento para determinação dos teores de As

4.2.1 Teor de As total

O teor de As total foi obtido por digestão, de acordo com o método 3051 A da Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA, 1998b). As amostras foram maceradas em moinho de ágata e passadas através de peneira de náilon de 150 μm de malha. Efetuou-se a digestão em forno de micro-ondas MARS-5, sendo utilizado 1 g de material sólido (triplicata) em 10 mL de HNO_3 concentrado. Após a digestão, o extrato foi filtrado em filtro tipo Whatman n° 40 e o volume completado até 20 mL com água.

4.2.2 Teor de As extraído por Mehlich-1

Para esta determinação, utilizaram-se 2,5 g de material sólido seco ao ar (fração < 2 mm) e 10 mL da solução extratora Mehlich-1 (0,05 mol L^{-1} HCl + 0,0125 mol L^{-1} H_2SO_4). O material sólido e a solução foram colocados em tubo de centrífuga com capacidade de 15 mL e, após ser agitado horizontalmente (150 rpm) por 5 minutos, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm, por 10 minutos. A suspensão foi filtrada através de membrana polietersulfônica (náilon) de 0,45 μm (25 mm de diâmetro). Os extratos filtrados foram preservados sob refrigeração (4°C), até serem analisados.

4.2.3 Bioacessibilidade de As *In vitro* gastrintestinal

A bioacessibilidade de As nas amostras foi determinada utilizando-se o protocolo *In vitro* gastrintestinal, proposto por Rodriguez et al. (1999), que consta de duas fases sequenciais (gástrica e intestinal), com algumas modificações.

A fase gástrica consistiu na mistura de 1 g de material sólido (<150 μm) com 150 mL da solução gástrica constituída de 1% de pepsina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Cat. n°. P7000) em NaCl 0,15 mol L^{-1} (p.a., Merck, Darmstadt,

Germany). A solução gástrica foi acidificada antes de se adicionar o material sólido, com HCl concentrado (37%, Merck, Darmstadt, Germany), atingindo $\text{pH}=1,80\pm 0,05$. Os frascos (erlenmeyers de 250 mL) com a solução gástrica e material sólido foram colocados em banho-maria (tipo Dubnoff com ajuste de temperatura digital e agitação), à temperatura de $37\pm 0,5^\circ\text{C}$ e deixados sob agitação horizontal constante ($100\pm 2\text{rpm}$), por 1 hora.

O meio intestinal consistiu no ajuste do pH da solução gástrica, com NaHCO_3 (p.a., Merck, Darmstadt, Germany), para $5,5\pm 0,1$ e adicionaram-se à solução 0,525 g de bile extraída de suíno (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, Cat. No. B8631) e 0,053 g de pancreatina (Sigma-Aldrich, Cat. No. P1500). O recipiente com a mistura foi também deixado sob agitação horizontal ($100\pm 2\text{rpm}$), por 1 hora, a $37\pm 0,5^\circ\text{C}$.

Ao final de cada fase (gástrica e intestinal), 10 mL da solução foram coletados e centrifugados a 10.000 rpm, por 15 minutos, sendo o sobrenadante filtrado através de membrana polietersulfônica (náilon) de $0,45\ \mu\text{m}$ (25 mm de diâmetro), para o interior de tubos de centrífuga de polipropileno com capacidade de 15 mL. Os extratos filtrados foram preservados sob refrigeração (4°C), até serem analisados.

O teor de As (total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível) foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica, com o equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800[®] com atomizador tipo forno de grafite. Os teores mais elevados ($>1,0\ \text{mg kg}^{-1}$) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com atomizador tipo chama.

O percentual de As bioacessível foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{As bioacessível}(\%) = \frac{\text{As } in \text{ vitro}}{\text{As total}} \times 100$$

4.3 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)

Água ultrapura com resistividade de 18,2 MΩ cm (sistema de água Milli-Q) foi utilizada no preparo das soluções. Todas as vidrarias, frascos e materiais empregados na pesquisa foram tratados com solução de HNO₃ a 10%, por 24 horas e depois enxaguados três vezes com água destilada antes de serem usados.

As amostras foram analisadas em triplicata, com exceção dos materiais certificados nos teores de As total (duplicata). Em cada bateria de amostras procedidas, uma amostra em branco foi conduzida em paralelo, para fins de controle de qualidade das análises. Os teores de As em todas as amostras em branco nos procedimentos analíticos foram sempre menores que o limite de detecção calculado para o método, utilizando-se forno de grafite (4 µg de As L⁻¹).

Para avaliar a reprodução e a acurácia/precisão dos procedimentos analíticos nas determinações dos teores de As e também permitir a comparação com outros resultados publicados, utilizaram-se, nas determinações analíticas, os materiais de referência certificados, NIST 2710 (*Montana Soil, Highly Elevated Trace Element Concentrations*) e NIST 2709 (*San Joaquin Soil, Baseline Trace Element Concentrations*). Os dois materiais de referência foram analisados pelo método USEPA 3051 A (As total) e apenas o NIST 2710 foi analisado pelo método IVG (As bioacessível). O material NIST 2710 tem sido utilizado em outros estudos de bioacessibilidade de As (Hamel et al., 1998; Ellickson et al., 2001; Koch et al., 2005; Pouschat & Zagury, 2006; Koch et al., 2007; Girouard & Zagury, 2009), não ocorrendo o mesmo para o NIST 2709, dados os baixos teores de elementos-traço encontrados neste último.

4.4 Estimativa para avaliação da exposição

Para estimar, de forma preliminar, o risco não cancerígeno (parâmetros utilizados para crianças, categoria mais susceptível de uma população) de pessoas expostas a áreas com materiais contaminados (solo/substrato/rejeito) e tendo como base a ingestão involuntária de solos como via de exposição ao As, calculou-se a dose de exposição pela seguinte equação, conforme Pouschat & Zagury (2006).

$$CDI = \frac{EPC \times SIR \times EF \times B \times CF}{BW}$$

em que CDI = As ingerido ($\mu\text{g kg}^{-1}$ massa corpórea dia^{-1}); EPC = teor de As total nas amostras (mg kg^{-1}); SIR = taxa de ingestão de solo por uma criança (100 mg dia^{-1}); EF = frequência de exposição ($0,5 = 182$ dias/ano); B = bioacessibilidade (%) (estimada usando o método IVG); BW = massa corpórea (15,4 kg para crianças de 0-6 anos de idade) e CF = fator de conversão de unidade (10^{-3}).

A taxa de ingestão de solo (SIR) de 100 mg dia^{-1} por uma criança está de acordo com USEPA (1997) e Dube et al. (2004); a frequência de exposição está de acordo com Hemond & Solo-Gabriele (2004) e o valor da massa corporal (15,4 kg) de crianças entre 0-6 anos foi calculado a partir de dados disponíveis na Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2006), por Guilherme & Marchi (2007).

A dose diária média (CDI) de um contaminante via uma rota identificada indica a quantidade da substância química ingerida por kg de massa corpórea por dia. O critério de toxicidade para substâncias que podem potencialmente causar efeitos não carcinogênicos baseia-se nas doses de referência (RfDs), sendo estas o nível limite além do qual podem resultar efeitos tóxicos (Guilherme & Marchi, 2007). A razão entre a dose diária média e a dose de referência (RfD) fornece o quociente de risco (QR), que informa o quanto a rota de exposição em questão

(i.e., ingestão de solo) contribui na entrada máxima permitida do contaminante. A soma dos QRs possíveis de existir (i.e., via inalação, absorção dérmica, ingestão água, alimentos, etc.) gera o índice de perigo (HI). Se o HI calculado é menor do que 1, pode-se concluir que os efeitos adversos não cancerígenos pelas rotas de exposição ao contaminante são insignificantes.

Para estimar o risco não carcinogênico, a avaliação da dose-resposta foi obtida utilizando-se a RfD derivada do banco de dados da Integrated Risk Information System (IRIS) (USEPA, 1998a). As RfDs crônicas orais são desenvolvidas para ter um papel protetor da saúde à exposição a uma substância química por um longo tempo (Guilherme & Marchi, 2007).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Controle e garantia da qualidade (protocolos QA/QC)

A acurácia e a precisão na determinação dos teores de As total via digestão ácida (USEPA 3051 A) foram verificadas utilizando-se os materiais NIST 2710 e 2709. As percentagens de recuperação média obtidas no estudo foram de $89,86 \pm 0,76$ (NIST 2710) e $91,05 \pm 2,03\%$ (NIST 2709), com desvio padrão relativo para as amostras de 0,85 e 2,23%, respectivamente. Isso indicou uma excelente acurácia e precisão do método.

A reprodução do protocolo IVG foi avaliada utilizando o NIST 2710, material que permite a comparação com outros testes *in vitro* publicados. Os valores de bioacessibilidade obtidos foram de $28,41 \pm 2,13\%$ (fase gástrica) e $27,41 \pm 1,55\%$ (gastrintestinal). Tais valores foram muito próximos dos reportados por Pouschat & Zagury (2006), de $27,6 \pm 0,4$ gástrico e $25,2 \pm 0,3\%$ gastrintestinal; por Girouard & Zagury (2009), de $25,7 \pm 4,7$ gástrico e $23,4 \pm 3\%$ gastrintestinal, ambos utilizando o método *In vitro gastrintestinal*; por Koch et al. (2005), de $28 \pm 17\%$ gástrico e por Koch et al. (2007), de 36% gástrico. Desse

modo, pode-se afirmar que a reprodução e a acurácia/precisão do protocolo IVG foram válidas, podendo ser aplicadas nas amostras do presente estudo.

5.2 Teor de As total (USEPA 3051 A)

As amostras das áreas do presente estudo apresentaram enorme variabilidade em teores médios de As total, variando de 24,64 (RPPN, 0-2 cm) a 1.890,8 mg kg⁻¹ (rejeito) (Figura 1). Enorme variabilidade também foi verificada entre as amostras (n=5) coletadas em mesma área e profundidade, apresentando o estéril (2-10 cm) o menor desvio padrão relativo (DPR = 8,04%) e o rejeito, o maior (40,9%) (Figura 1). Em áreas de mineração, é comum a enorme heterogeneidade nos teores de elementos-traço em amostras de uma mesma área e entre áreas, devido à movimentação e ao revolvimento constantes dos materiais a serem minerados.

Amostras coletadas na mina de Au e Ag, em Myungbong, na Coreia e ao redor dela, apresentaram teores de As total (digestão em água régia) entre 25 e 131 mg kg⁻¹ para solos (DPR = 62,67%) e entre 1.946 a 3.090 mg kg⁻¹ nos rejeitos (DPR = 25,93%) (Lee et al., 2008). Juhasz et al. (2007) encontraram altíssimos teores de As total em amostras (n=8) de solos contaminados de área de mineração de ouro, com o maior teor de 12.781 mg kg⁻¹.

Nas amostras (n=5) do rejeito, os teores de As variaram de 1.065,42 a 2.665,63 mg kg⁻¹ (Figura 1). Vale salientar que tais amostras foram coletadas em uma mesma lagoa de retenção, porém, em dois locais (pontos) distintos. Os teores médios de As±desvio padrão desses locais distintos foram 1.080,30±21,04 (n=2) e 2.431,13±317,61 mg kg⁻¹ (n=3), demonstrando o quanto o teor de As varia no material em pontos distintos da lagoa de retenção.

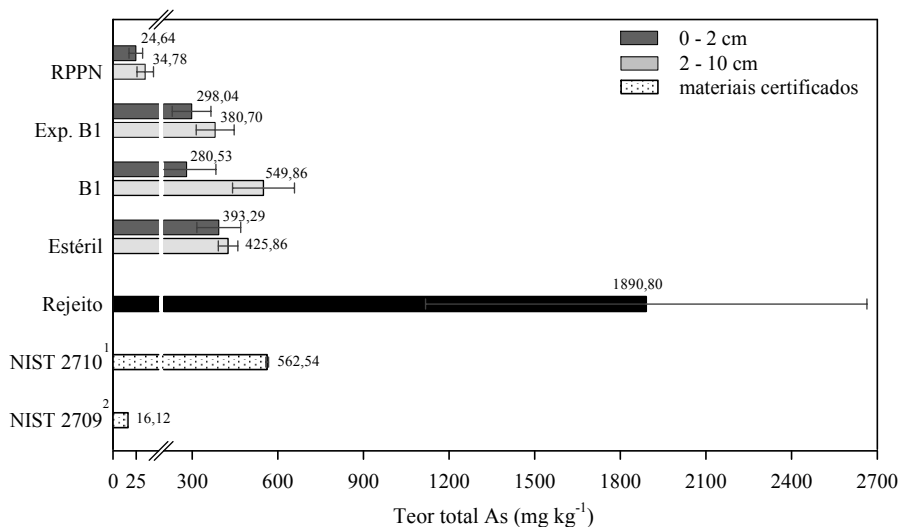


FIGURA 1 Teor de As total em amostras da área de mineração de ouro em Paracatu, MG e em materiais de referência certificados. ^{1,2}valor certificado (626 ± 38 e $17,7\pm 0,8$ mg kg⁻¹).

Silva et al. (2004), trabalhando com uma amostra composta de rejeito, formada por 30 amostras simples coletadas ao longo da barragem de rejeito localizada em uma área de mineração de ouro em Minas Gerais, obtiveram o valor de As total de 4.322 mg kg⁻¹ (água régia), valor este bem maior que o encontrado no presente estudo.

Os teores médios de As total foram maiores na profundidade de 2 a 10 cm (aproximadamente 41%, 28%, 96% e 8%), em comparação à profundidade de 0 a 2 cm, para as áreas RPPN, Exp. B1, B1 e estéril, respectivamente (Figura 1). Observou-se que o material B1 teve a maior discrepância nos valores de As para a estratificação, variando de $280,53\pm 102,44$ (0 a 2 cm) a $549,86\pm 108,44$ mg kg⁻¹ (2 a 10 cm).

Para uma avaliação de risco considerando como rota de exposição a ingestão involuntária de solos por crianças, a camada de solo mais importante a ser considerada nesta avaliação é a mais superficial (primeiros centímetros). Em áreas com teores muito elevados de elementos-traço, poucas espécies vegetais conseguem sobreviver, ficando tais áreas descobertas. Assim, a camada mais superficial dessas áreas pode ser carregada pelo vento e água (chuva) para áreas urbanas, rios, áreas agrícolas, etc. Desse modo, verifica-se a importância de se caracterizar, em uma avaliação de risco, não apenas a camada mais superficial, como também um pouco abaixo desta, visto que, uma vez que os primeiros centímetros forem carregados, a camada abaixo desses tornar-se-á a mais superficial.

5.3 Teor de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível

Os teores de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível nas amostras coletadas estratificadas (RPPN, Exp. B1, B1 e estéril) foram muito baixos (Figura 2), quando comparados com aqueles obtidos em outros estudos, tendo os menores valores sido para a área RPPN, como esperado, por ser a área controle. Salienta-se que os maiores valores encontrados nessas amostras foram sempre menores que 10 mg de As kg⁻¹.

Em um estudo avaliando a bioacessibilidade de As em duas amostras de poeira doméstica e duas de solo de jardim, coletadas em residências ao redor de uma área de mineração desativada, foram encontrados teores de As bioacessível para a fase gastrointestinal de 21,8 e 272 mg kg⁻¹ (poeira doméstica) e de 58,4 e 158,8 mg kg⁻¹ (solo jardim) (Rieuwerts et al., 2006). No caso do estudo de Juhasz et al. (2007), foram encontrados teores de As bioacessível máximo de 4473,35 mg kg⁻¹ em amostras (n=8) de solos contaminados de área de mineração de ouro, valor esse bem acima dos encontrados nas amostras do presente estudo.

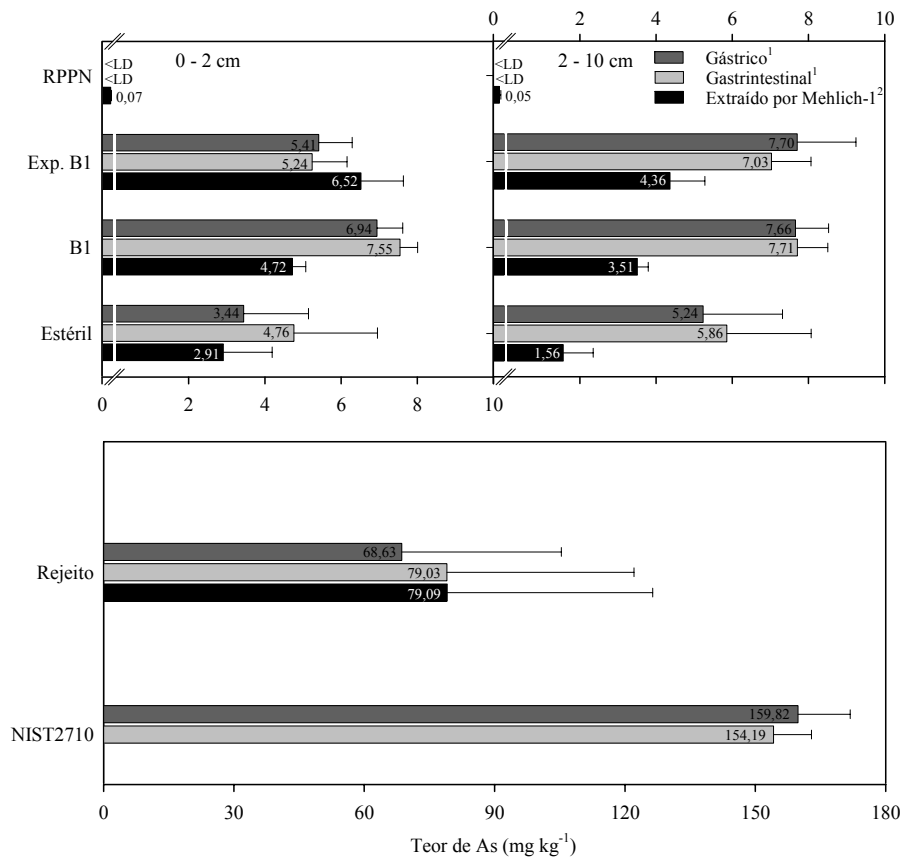


FIGURA 2 Teor de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível em amostras da área de mineração de ouro em Paracatu, MG e As bioacessível em material de referência certificado. <LD = menor que o limite de detecção ($4 \mu\text{g L}^{-1}$). ^{1,2}tamanho de partícula $<150 \mu\text{m}$ e $<2 \text{mm}$, respectivamente, exceto material de referência certificado ($<74 \mu\text{m}$).

O maior teor de As extraído por Mehlich-1 (média de $79,09 \text{ mg kg}^{-1}$) e bioacessível (média de $68,63$ gástrico e $79,03 \text{ mg kg}^{-1}$ gastrintestinal) nas áreas da mina foi encontrado para o rejeito (Figura 2). Silva et al. (2004), em estudo em área de mineração de ouro em Minas Gerais obtiveram, em uma amostra

composta de rejeito, teor de As extraído por Mehlich-1 aproximadamente de 2,4 vezes maior que a do presente estudo.

Observou-se também, de modo semelhante ao verificado para os teores de As total (Figura 1), enorme variabilidade nos teores de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível nas amostras de cada área, bem como nas diferentes profundidades de coleta, com os maiores desvios padrões relativos (DPRs) para o material rejeito (DPRs = 59,79% extraído por Mehlich-1, 53,52% gástrico e 54,47% gastrintestinal) (Figura 2).

Os valores médios de As bioacessível (gástrico e gastrintestinal) para as amostras das áreas, na profundidade de 2-10 cm, foram sempre maiores que os da profundidade 0-2 cm (Figura 2), apresentando comportamento semelhante ao dos teores de As total nas mesmas amostras. O inverso ocorreu para os teores de As extraído por Mehlich-1.

Até o conhecimento dos autores, nenhuma pesquisa anterior de bioacessibilidade de As em solo, substratos e rejeito tem sido realizada em área de mineração de ouro no Brasil, para que os dados do presente estudo pudessem ser comparados.

5.4 Bioacessibilidade de As (%)

O As bioacessível (%) médio para cada área e profundidade foi calculado pela razão entre o teor médio de As bioacessível e o total (Tabela 1). O As bioacessível (%) nas amostras foi muito baixo, com o menor valor para o RPPN (<LD) e o maior para o rejeito (3,96% gástrico e 4,18% gastrintestinal).

TABELA 1 Bioacessibilidade média de As em amostras coletadas em área de mineração de ouro no município de Paracatu, MG e em material de referência certificado.

Material ²	As bioacessível (%) ¹ (0-2 cm) ⁴		As bioacessível (%) ¹ (2-10 cm)	
	Gástrica	Gastrintestinal	Gástrica	Gastrintestinal
RPPN	< LD	< LD	< LD	< LD
Exp. B1	1,82±0,30	1,76±0,31	2,02±0,40	1,85±0,27
B1	2,47±0,24	2,69±0,16	1,39±0,16	1,40±0,14
Estéril	0,88±0,43	1,21±0,56	1,23±0,49	1,38±0,52
Média ³	1,72	1,89	1,55	1,54
Rejeito	3,63±1,94	4,18±2,28		
NIST 2710	28,41±2,13	27,41±1,55		

<LD = menor que o limite de detecção (4 µg L⁻¹). ¹valor médio±desvio padrão (n=5, exceto NIST n=3). ²tamanho de partícula <150 µm, exceto para o material de referência certificado (<74µm). ³(Exp. B1, B1 e estéril). ⁴profundidade 0-2 cm, exceto rejeito e NIST 2710.

Observando o conjunto de amostras totais do estudo (n=45), ficaria fácil estipular uma percentagem generalizada de bioacessibilidade restrita (valor máximo = 5,44%) para as amostras da área de mineração, visto que os percentuais de bioacessibilidade das amostras foram todos baixos e próximos. Este valor poderia ser utilizado, no caso de novas amostragens, para fins de avaliação de risco, realizando nas amostras apenas o teor de As total.

Porém, afirmações dessa natureza não são seguras, devido à variação das percentagens de bioacessibilidade que têm sido encontradas por vários autores. Pouschat & Zagury (2006); Sarkar et al. (2007a); Girouard & Zagury (2009), utilizando o teste IVG em amostras de materiais com elevados teores de As, encontraram amplitudes (valor mínimo e máximo) de As bioacessível (%) na fase gastrintestinal de 25±2,7 a 66,6±2,3 (média de 40,7±14,9), 3 a 90 (média de 37) e 17±0,4 a 46,9±1,1 (média de 30,5±3,6), respectivamente.

5.5 Estimativa da dose de exposição

O cálculo para a dose de exposição (CDI) (Tabela 2) foi efetuado em uma amostra de cada área e profundidade, sendo selecionada a que continha, com base no seu teor de As total e percentagem de As bioacessível, o maior teor de As bioacessível.

Os cálculos indicam que crianças expostas ao cenário hipotético poderiam estar ingerindo As entre 0,022 (Exp. B1, 0 a 2 cm) a 0,376 $\mu\text{g kg}^{-1}$ BW dia⁻¹ (rejeito) (Tabela 2). Observou-se que todas as amostras selecionadas tiveram o CDI baixo, exceto o material rejeito que foi maior que a RfD de 0,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ BW dia⁻¹. Pouschat & Zagury (2006) encontraram valores de ingestão diária de As entre 0,05 a 0,32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ BW dia⁻¹ (média de 0,18 $\mu\text{g kg}^{-1}$ BW dia⁻¹), para solos contaminados com As.

TABELA 2 Estimativa da dose de ingestão diária de As, por crianças, em exposição aos materiais da área de mineração de ouro no município de Paracatu, MG.

Amostra ¹	EPC	B	CDI	QR
Exp. B1 ²	334,52	2,02	0,022	0,073
Exp. B1 ³	358,44	2,25	0,026	0,087
B1 ²	261,97	3,08	0,026	0,087
B1 ³	664,03	1,32	0,029	0,095
Estéril ²	527,31	1,58	0,027	0,090
Estéril ³	371,61	2,40	0,029	0,096
Rejeito	2665,63	4,35	0,376	1,254

¹selecionada uma amostra de cada área sendo a que continha o maior teor de As bioacessível.
^{2,3}coletadas na profundidade entre 0-2 e 2-10 cm, respectivamente. EPC = teor de As total nas amostras (mg kg^{-1}); B = bioacessibilidade (%); CDI = As ingerido ($\mu\text{g kg}^{-1}$ BW dia⁻¹); QR = quociente de risco.

Estudo desenvolvido por Rieuwerts et al. (2006), estimando as doses de ingestão de As mediante exposição a solos de jardim de residências (n=20),

utilizando uma taxa de ingestão de 100 mg de solo dia⁻¹, e considerando uma bioacessibilidade de 44% e uma massa corpórea de 16,15 kg (crianças), obtiveram valores de ingestão de As entre 0,06 a 1,28 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹. Neste estudo, das 20 amostras de solo avaliadas, 95% excederam os 0,3 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹. Ao utilizar a bioacessibilidade de 8,5% para o mesmo cenário de risco, nenhuma amostra excedeu o valor de 0,3 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹.

A taxa de ingestão de As entre as amostras estratificadas foram semelhantes, sendo, em média, de 0,025 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹ (QR = 0,083) no estrato 0 a 2 cm e de 0,028 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹ (QR = 0,093) no estrato 2 a 10 cm (Tabela 2). Isso indica que aproximadamente 8% e 9%, respectivamente, da entrada de As nesse cenário é função da rota de ingestão de solo/substratos contaminados. Outras rotas de entrada podem ser por inalação, absorção dérmica, ingestão de água, alimentos, etc.

O material mais contaminado da área de mineração foi o rejeito, que teve o seu QR estimado maior que 1,0 (Tabela 2). Esse valor (QR = 1,254) indica, nesse cenário de risco, que a entrada máxima de As permitida (0,3 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹) já foi ultrapassada em 25%, apenas considerando a via ingestão de rejeito.

Lee et al. (2008), não considerando a bioacessibilidade de As para os cálculos da dose diária de As, encontraram QRs de 0,13; 0,85 e 7,82, para ingestão de solo, água e arroz (grãos), respectivamente, concluindo que o risco tóxico (entrada de As) por meio da ingestão de arroz demonstrou ser uma rota muito significativa.

No cálculo da dose de As diário que poderá ser ingerido por uma criança, tendo em vista uma ingestão de 100 mg de solo dia⁻¹, uma frequência de exposição (0,5) e considerando o As bioacessível, fica claro que, com exceção do rejeito, os materiais das áreas contribuem no máximo, pela rota de exposição em questão, com 9,5% na entrada de As máxima permitida (0,3 µg kg⁻¹ BW dia⁻¹) (Tabela 2).

Com isso, fica evidente que valores de As limites (máximos), apenas considerando o teor total, podem superestimar um cálculo de quociente de risco ou índice de perigo em uma avaliação de risco e gerar custos adicionais em estratégias de remediação de certas áreas. Valores elevados de um contaminante em um meio não são suficientes para diagnosticar o risco real, se a sua biodisponibilidade é baixa. Nesse sentido, seria interessante que os órgãos reguladores passassem a considerar o As bioacessível nesses materiais nas avaliações de risco, por ser a ingestão de solo a principal via de exposição a crianças.

Vale frisar que os valores da dose de ingestão de As foram calculados em um cenário hipotético de risco máximo (pior possível) e prático. Atualmente, a população não tem acesso livre à área de mineração em questão, sendo esta cercada e vigiada por equipe de segurança, não ocorrendo, portanto, risco à saúde pela ausência de exposição.

5.6 Correlação entre os teores de As extraídos por diferentes extratores

Análises de correlação paramétricas de Pearson mostraram não haver relação significativa entre os teores de As total e bioacessível (gástrico e gastrointestinal) e também entre As total e o extraído por Mehlich-1, considerando para o cálculo as amostras (n=30) das áreas Exp. B1, B1 e estéril. Outros autores verificaram a mesma tendência entre o As total e bioacessível, concluindo que a variável teor de As bioacessível não é influenciada linearmente pelos teores de As total (Pouschat & Zagury, 2006; Girouard & Zagury, 2009).

Houve correlação positiva e significativa entre os teores de As pelo método Mehlich-1 e bioacessível gástrico em cada profundidade: 0-2 cm (n=15, $r=0,64$, $p<0,01$) e 2-10 cm (n=15, $r=0,84$, $p<0,001$), considerando para o cálculo as amostras das áreas Exp. B1, B1 e estéril (Figura 3). Já entre o método Mehlich-1 e bioacessível gastrointestinal, apenas foi verificada correlação

positiva e significativa na profundidade 2-10 cm (n=15, r=0,67, p<0,01). Observou-se que, apesar da existência de correlação significativa entre os métodos, os ajustes do modelo linear não foram satisfatórios, exceto entre o Mehlich-1 e o bioacessível gástrico, na profundidade de 2-10 cm.

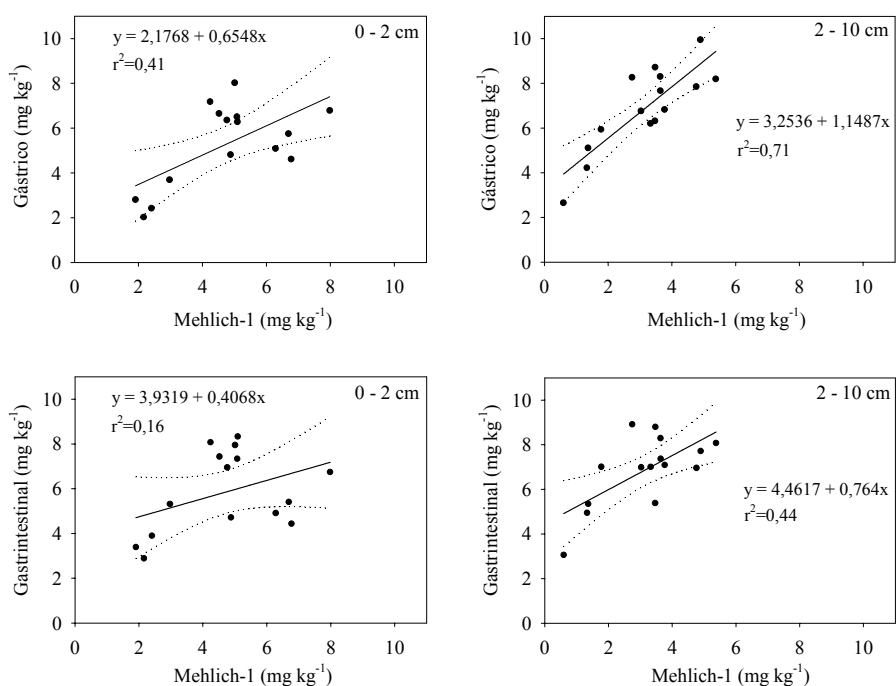


FIGURA 3 Correlação entre os teores de As extraído por Mehlich-1 e bioacessível (gástrico e gastrintestinal) em amostras estratificadas (Exp. B1, B1 e estéril) de área de mineração de ouro. Linhas pontilhadas representam o intervalo de confiança de 95%.

Outros modelos de equação podem proporcionar um melhor ajuste para o conjunto de dados, porém, não se tem uma aplicação prática para o objetivo do trabalho. A equação da reta é o modelo que melhor se ajustaria, de modo prático,

para expressar a relação entre as duas variáveis, proporcionando estimar o As bioacessível por meio de valores de As extraído por Mehlich-1 na equação do modelo.

Houve correlação significativa ($p < 0,001$) entre as duas fases de extração bioacessível (gástrica e gastrintestinal), considerando as amostras (Exp. B1, B1 e estéril) estratificadas do estudo no conjunto de dados ($n=30$, $r=0,91$) (Figura 4). Sarkar et al. (2007b) relataram a mesma tendência, ou seja, a existência de correlação significativa ($r=0,95$; $p < 0,001$) entre as duas fases, indicando que ambas extraíram As dos solos de forma similar.

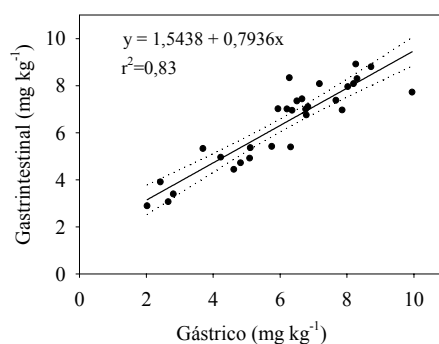


FIGURA 4 Correlação entre os teores de As bioacessível gástrico e gastrintestinal em amostras (Exp. B1, B1 e estéril) de área de mineração de ouro. Linhas pontilhadas representam o intervalo de confiança de 95%.

Observa-se que a fase gástrica extraiu As de forma muito semelhante à fase gastrintestinal (Figura 4). Desse modo, por custo e tempo para realizar a segunda fase bioacessível, em amostras de área de mineração, tem-se a possibilidade de efetuar apenas a primeira fase, para determinar o As bioacessível, para ser utilizado em estimativas de avaliação de risco.

6 CONCLUSÕES

Os menores teores de As total, extraído por Mehlich-1 e bioacessível foram encontrados para a área RPPN (controle) e os maiores para o rejeito. Todas as amostras da área de mineração apresentaram baixos percentuais de As bioacessível.

Os valores estimados da taxa de ingestão de As (CDI) para as amostras selecionadas foram baixos, exceto para o material rejeito que foi maior que a RfD de $0,3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ BW dia}^{-1}$.

O cálculo da dose de exposição, para o cenário hipotético de risco, indica que, com exceção do rejeito, os materiais das áreas contribuem, no máximo, pela rota de exposição em questão, com 9,5% na entrada de As máxima permitida ($0,3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ BW dia}^{-1}$).

O teor de As extraído por Mehlich-1 apresentou relação direta com o teor bioacessível para a fase gástrica, nas duas profundidades e gastrointestinal para a profundidade de 2-10 cm.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Cercla priority list of hazardous substances**. Atlanta: ATSDR, 2007. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>>. Acesso em: 10 out. 2009.

BORBA, R. P.; FIQUEIREDO, E. B. R.; MATSCHULLAT, E. J. Geochemical distribution of arsenic in waters, sediments and weathered gold mineralized rocks from iron quadrangle, Brazil. **Environmental Geology**, Berlin, v. 44, n. 1, p. 39-52, May 2003.

CHOE, E.; KIM, K. W.; BANG, S.; YOON, I. H.; LEE, K. Y. Qualitative analysis and mapping of heavy metals in an abandoned Au-Ag mine area using NIR spectroscopy. **Environmental Geology**, Berlin, v. 58, n. 3, p. 477-482, Aug. 2009.

COHEN, J. T.; BECK, B. D.; BOWERS, T. S.; BORNSCHEIN, R. L.; CALABRESE, E. J. An arsenic exposure model: probabilistic validation using empirical data. **Human and Ecological Risk Assessment: an International Journal**, Boca Raton, v. 4, n. 2, p. 341-377, Apr. 1998.

DUBE, E. M.; PETITO BOYCE, C.; BECK, B. D.; LEWANDOWSKI, T.; SCHETTLER, S. Assessment of potential human health risks from arsenic in CCA-treated wood. **Human and Ecological Risk Assessment**, Boca Raton, v. 10, n. 6, p. 1019-1067, Dec. 2004.

ELICKSON, K. M.; MEEKER, R. J.; GALLO, M. A.; BUCKLEY, B. T.; LIOY, P. J. Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 40, n. 1, p. 128-135, Jan. 2001.

GIROUARD, E.; ZAGURY, G. J. Arsenic bioaccessibility in CCA-contaminated soils: influence of soil properties, arsenic fractionation and particle-size fraction. **Science of the Total Environment**, New York, v. 407, n. 8, p. 2576-2585, Apr. 2009.

GUILHERME, L. R. G.; MARCHI, G. **Metais em fertilizantes inorgânicos: avaliação de risco à saúde após a aplicação.** São Paulo: Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2007. v. 1, 147 p.

HAMEL, S. C.; BUCKLEY, B.; LIOY, P. J. Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 32, n. 3, p. 358-362, Feb. 1998.

HEMOND, H. F.; SOLO-GABRIELE, H. M. Children's exposure to arsenic from CCA-treated wooden decks and playground structures. **Risk Analysis: an International Journal**, New York, v. 24, n. 1, p. 51-64, Feb. 2004.

JUHASZ, A. L.; SMITH, E.; WEBER, J.; REES, M.; ROFE, A.; KUHCEL, T.; SANSOM, L.; NAIDU, R. In vitro assessment of arsenic bioaccessibility in contaminated (anthropogenic and geogenic) soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 69-78, Aug. 2007.

KOCH, I.; DUSO, A.; HAUG, C.; MISKELLY, C.; SOMMERVILLE, M.; SMITH, P.; REIMER, K. J. Distinguishing between naturally and anthropogenically elevated arsenic at an abandoned Arctic military site. **Environmental Forensics**, London, v. 6, n. 4, p. 335-344, Dec. 2005.

KOCH, I.; SYLVESTER, S.; LAI, V. W. M.; OWEN, A.; REIMER, K. J.; CULLEN, W. R. Bioaccessibility and excretion of arsenic in *Niu Huang Jie Du Pian* pills. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 222, n. 3, p. 357-364, Aug. 2007.

KWON, E.; ZHANG, H. Q.; WANG, Z. W.; JHANGRI, G. S.; LU, X. F.; FOK, N.; GABOS, S.; LI, X. F.; LE, X. C. Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds. **Environmental Health Perspectives**, Washington, v. 112, n. 14, p. 1375-1380, Oct. 2004.

LEE, J. S.; LEE, S. W.; CHON, H. T.; KIM, K. W. Evaluation of human exposure to arsenic due to rice ingestion in the vicinity of abandoned myungbong Au – Ag mine site, Korea. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 96, n. 2/3, p. 231-235, Feb./Mar. 2008.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. **Talanta**, Oxford, v. 58, n. 1, p. 201-235, Aug. 2002.

OOMEN, A. G.; HACK, A.; MINEKUS, M.; ZEIJDNER, E.; CORNELIS, S. C.; SCHOETERS, G.; VERSTRAETE, W.; WIELE, T. van de; WRAGG, J.; ROMPELBERG, C. J. M.; SIPS, A.; WIJNEN, J. H. van. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 36, n. 15, p. 3326-3334, Aug. 2002.

POUSCHAT, P.; ZAGURY, G. J. In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA - treated utility poles. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 40, n. 13, p. 4317-4323, Aug. 2006.

RIEUWERTS, J. S.; SEARLE, P.; BUCK, R. Bioaccessible arsenic in the home environment in southwest England. **Science of the Total Environment**, New York, v. 371, n. 1/3, p. 89-98, Dec. 2006.

RODRIGUEZ, R. R.; BASTA, N. T.; CASTEEL, S. W.; PACE, L. W. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 4, p. 642-649, Jan. 1999.

RUBY, M. V.; DAVIS, A.; SCHOOF, R.; EBERLE, S.; SELLSTONE, C. M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 30, n. 2, p. 422-430, Jan. 1996.

RUBY, M. V.; SCHOOF, R.; BRATTIN, W.; GOLDADE, M.; POST, G.; HARNOIS, M.; MOSBY, D. E.; CASTEEL, S. W.; BERTI, W.; CARPENTER, M.; EDWARDS, D.; CRAGIN, D.; CHAPPELL, W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganic in soil for use in human health risk assessment. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 33, n. 21, p. 3697-3705, Sept. 1999.

SARKAR, D.; MAKRIS, K. C.; PARRA-NOONAN, M. T.; DATTA, R. Effect of soil properties on arsenic fractionation and bioaccessibility in cattle and sheep dipping vat sites. **Environment International**, New York, v. 33, n. 2, p. 164-169, Feb. 2007a.

SARKAR, D.; QUAZI, S.; MAKRIS, K. C.; DATTA, R.; KHAIRUM, A. Arsenic bioaccessibility in a soil amended with drinking-water treatment residuals in the presence of phosphorus fertilizer. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, New York, v. 53, n. 3, p. 329-336, Oct. 2007b.

SILVA, S. R.; PROCÓPIO, S. O.; QUEIROZ, T. F. N.; DIAS, L. E. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p. 189-196, jan./fev. 2004.

SMITH, E.; NAIDU, R.; WEBER, J.; JUHASZ, A. L. The impact of sequestration on the bioaccessibility of arsenic in long-term contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, n. 4, p. 773-780, Mar. 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Exposure factors handbook**: volume I: general factors. Washington, 1997.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Integrated risk information system (IRIS)**. 1998a. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ncea/iris/subst/0278.htm>>. Acesso em: 20 out. 2009.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3051A: microwave assisted acid digest of sediments, sludges, soils and oils. In: _____ . **SW-846**: test methods for evaluation solid waste physical and chemical methods. Washington: Office of Solid Waste/Environmental Protection Agency, 1998b. p. 1-20.