

ECOTOXICIDADE E BIODISPONIBILIDADE DE METAIS EM SOLOS IMPACTADOS POR REJEITOS INDUSTRIAIS EM QUEIMADOS, RJ, BRASIL

Ricardo CESAR¹, Ana Paula RODRIGUES¹, Maria Carla Barreto SANTOS¹, Stephanie SENDEROWITZ², Juan COLONESE², Cristiane MOREIRA¹, Luiz Carlos BERTOLINO², Zuleica CASTILHOS², Silvia EGLER², John MADDOCK¹

- (1) Universidade Federal Fluminense, UFF. Instituto de Química, Departamento de Geoquímica Ambiental. Outeiro São João Baptista, s/n. Centro, Niterói – RJ. Endereço eletrônico: geo_ricardocesar@yahoo.com.br.
(2) Centro de Tecnologia Mineral, CETEM/MCTI. Serviço de Desenvolvimento Sustentável, Laboratório de Ecotoxicologia Aplicado à Indústria Mínero-Metalúrgica. Av. Pedro Calmon, 900. Cidade Universitária, Rio de Janeiro – RJ.

Introdução

Materiais, Métodos e Técnicas

Área de estudo e amostragem
Determinação do teor total de metais pesados
Índice geoquímico de distribuição granulométrica
Teste de toxicidade aguda com oligoquetas (*Eisenia andrei*)
Ensaio de comportamento com oligoquetas (*Eisenia andrei*)
Bioensaio agudo com micro-crustáceos aquáticos (*Daphnia similis*)

Discussões, Interpretações e Resultados

Caracterização física e química
Determinação dos teores de metais em solos totais
Determinação dos teores de metais em distintas frações granulométricas
Bioensaio agudo com micro-crustáceos aquáticos

Conclusões

Agradecimentos

Referências Bibliográficas

RESUMO - A ecotoxicidade e a biodisponibilidade de mercúrio, chumbo, zinco, cobre e cromo foram estudadas em solos superficiais coletados no CENTRES (Queimados, RJ), uma área impactada pela disposição inadequada de rejeitos industriais. A amostragem dos materiais foi efetuada em novembro/2009, sendo o grau de contaminação avaliado através de determinações químicas totais e execução de bioensaios agudos e de comportamento (fuga) com oligoquetas (*Eisenia andrei*) e microcrustáceos aquáticos (*Daphnia similis*), conforme procedimentos descritos em protocolos padrões (ASMT, ISO e ABNT). Os resultados revelaram elevadas concentrações de metais em solos, com teores que ultrapassavam os limites permitidos pela legislação brasileira. Contudo, os bioensaios sugerem baixos níveis de ecotoxicidade aguda e baixa biodisponibilidade de metais altamente tóxicos, como chumbo e cromo. Tal observação pode estar associada à presença de argilas do tipo 2:1 nesses solos, capazes de diminuir a biodisponibilidade de contaminantes na solução do solo. Dentre os indicadores utilizados, o comportamento de fuga dos oligoquetas pareceu ser o mais sensível à presença de agentes tóxicos nos solos.

Palavras-chave: Oligoquetas, micro-crustáceos, bioensaios, metais pesados, solos.

ABSTRACT - Ecotoxicity and bioavailability levels of mercury, lead, zinc, copper and chromium were studied in superficial soils collected in CENTRES (Queimados Municipality, RJ), an area impacted by inadequate disposal of industrial wastes. Soil sampling was performed in November/2009. Contamination levels were evaluated by quantifying total metal contents in soils and through acute and avoidance bioassays with earthworms (*Eisenia andrei*) and aquatic micro-crustaceous (*Daphnia similis*), according to procedures defined in standard protocols (ASTM, ISO and ABNT). The results revealed the occurrence of elevated concentrations of metals in soils, whose values were higher than that established by Brazilian legislation. However, the bioassays suggest low levels of ecotoxicity and low bioavailability of highly toxic metals, such as lead and chromium. Such observation may be associated with the presence of 2:1 clay minerals in those soils, which have the capacity of reducing the bioavailability of contaminants in the soil solution. The avoidance behavior of earthworms seems to be the most sensible indicator to the presence of toxic agents in the soils.

Keywords: Earthworms, micro-crustaceous, bioassays, heavy metals, soils.

INTRODUÇÃO

A contaminação por metais em solos tem despertado a atenção da comunidade científica devido aos severos danos que estes elementos podem causar à saúde humana e aos ecossistemas. Além das erupções vulcânicas, fontes geológicas de contaminação estão atreladas ao intemperismo de rochas sulfetadas contendo elementos metálicos e a processos supergênicos de enriquecimento de metais.

Fontes antrópicas de poluição estão usualmente atreladas ao descarte inadequado de resíduos industriais e domésticos, bem como ao emprego indiscriminado de agrotóxicos.

A ecotoxicidade de metais em solos depende diretamente da forma química do elemento no ambiente e das especificidades biológicas do receptor ecológico estudado. Os mecanismos de (bio)disponibilidade, por sua vez, ficam

condicionados às propriedades físicas, químicas e mineralógicas do compartimento ambiental, tais como a textura, umidade, porosidade, permeabilidade, densidade, pH, Eh, mineralogia das argilas, capacidade de troca catiônica (CTC), oxi-hidróxidos de ferro e alumínio e matéria orgânica (Rodrigues-Filho *et al.* 1997; Yallouz *et al.*, 2008; Cesar *et al.*, 2011a; Cesar *et al.* 2011b). O entendimento desses processos é de fundamental importância à interpretação dos riscos potenciais à saúde do ecossistema, bem como ao estabelecimento de indicadores de sustentabilidade e de valores de referência tóxica para a biota do solo.

O emprego de bioensaios com organismos de fauna edáfica é amplamente difundido na literatura, embora este tipo de abordagem ainda seja relativamente escassa no Brasil. Neste sentido, collembolos (*Folsomia candida*), enquitreídeos (*Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus crypticus*) e oligoquetas (*Eisenia andrei*, *Eisenia foetida*) são organismos comumente utilizados em testes agudos e crônicos, bem como na estimativa das frações biodisponíveis de metais em ecossistemas terrestres (Straalen *et al.*, 2005; Natal-da-Luz *et al.*, 2009; Nahmani *et al.*, 2009). No caso dos oligoquetas, sua utilização em bioensaios se justifica pelo papel importante que esses organismos exercem na cadeia trófica terrestre (servindo de alimento para diversas espécies de animais), pela abundância em solos tropicais e temperados, pelo simples cultivo em laboratório e por serem sensíveis à presença de agentes tóxicos no solo (Liu *et al.*, 2005; Nahmani *et al.*, 2007).

Microcrustáceos de água doce (*Daphnia similis*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia*) também correspondem a organismos-teste largamente utilizados em ensaios agudos e crônicos, sobretudo na avaliação da qualidade

de águas superficiais e efluentes líquidos. Alternativamente, tais organismos são igualmente empregados na avaliação ecotoxicológica de solos contaminados, de forma a verificar o risco ecológico associado a comunidades aquáticas vizinhas (Baun *et al.* 2002; Parkpian *et al.*, 2002; Cesar *et al.*, 2010a). As principais razões que justificam o emprego desses animais em bioensaios são o simples cultivo em laboratório, seu curto ciclo de vida, reprodução partenogênica (possibilitando a obtenção de populações mais homogêneas para uso em testes) e sua abundância em sistemas fluviais (Maxam *et al.* 2000).

No Brasil, passivos ambientais abandonados e/ou dispostos de maneira inadequada sobre o continente tem sido freqüentemente reportados, sendo que boa parte desses resíduos perigosos foi abandonada durante o século passado (Castilhos *et al.*, 2010; Cesar *et al.*, 2011). A identificação e gestão desses sítios perigosos representam um desafio no Brasil, além de ser de fundamental importância ao gerenciamento dos riscos e à definição de medidas de saúde pública e de controle ambiental. O Centro Tecnológico de Resíduos (CENTRES) consiste em um bom exemplo de um passivo abandonado de rejeitos industriais na região metropolitana do Rio de Janeiro (Sissino, 2002; Santos, 2011), oferecendo risco potencial à saúde humana e à biota por exposição a solos contaminados por metais pesados e outros agentes tóxicos.

O presente trabalho trata da avaliação da ecotoxicidade e da biodisponibilidade potencial de metais pesados em solos superficiais oriundos do CENTRES (Queimados, RJ), como subsídio ao entendimento dos riscos associados à saúde da fauna edáfica e aquática local.

MATERIAIS, MÉTODOS E TÉCNICAS

Área de estudo e amostragem

Os solos estudados pertencem ao CENTRES (Centro Tecnológico de Resíduos) (23° 43' 57.65" S; 43° 34' 42.44" N), localizado em Queimados (RJ). O CENTRES corresponde a uma área de estocagem temporária de resíduos (atualmente desativada) oriundos de indústrias diversas, de onde deveriam seguir para um

destino final adequado. Entretanto, desde o ano de 1986 tais resíduos foram acumulados de maneira inadequada sobre os solos da área, contaminando-os com metais pesados e outros agentes tóxicos. Neste terreno, estavam estocadas mais de 3 mil toneladas de resíduos, alguns dos quais extremamente perigosos (Sissino, 2002), incluindo sucata, lodo

inorgânico, borras de tinta, etc. Até então, a área se encontra interdita e sob responsabilidade de uma ONG. O CETEM e a UFF são as primeiras instituições de pesquisa a terem acesso à área contaminada.

A campanha de coleta foi realizada em novembro/2009. As amostras de solo (sete pontos de amostragem) foram coletadas superficialmente com o auxílio de trado, e acondicionadas em sacos plásticos. Em laboratório, as amostras foram secas à temperatura ambiente, peneiradas a 1,7 mm (para remoção de raízes e outros detritos maiores) e enviadas para a avaliação ecotoxicológica. Posteriormente, as amostras foram fracionadas a seco com peneiras de nylon de 0,075mm e, dessa forma, duas frações granulométricas foram geradas: 1,7-0,075mm (fração arenosa) e < 0,075 mm (fração predominantemente silto-argilosa). As massas das frações granulométricas obtidas foram pesadas para cada amostra, de modo a caracterizar granulometricamente os materiais. Ambas as frações foram enviadas para a determinação dos teores totais de metais.

Determinação do teor total de metais pesados

A determinação de mercúrio total (HgT) em amostras bióticas e abióticas foi realizada com o equipamento portátil LUMEX (R A 915 +), um espectrofotômetro de absorção atômica baseado no diferencial Zeeman, e acoplado a uma câmara de pirólise. A quantificação dos teores totais de zinco (Zn), cobre (Cu), chumbo (Pb), cromo (Cr) e níquel (Ni) foi realizada através da solubilização de um (1) grama de amostra em béquer de platina utilizando uma mistura ácida composta de HF:HCl:HClO₄ (2:1:1). A solução obtida foi então aquecida até secar em chapa a 120 °C, sendo retomada com ácido nítrico 5% (HNO₃) para medição em Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). Amostras certificadas (NIST 2709 San Joaquin Soil) foram analisadas de modo a garantir a qualidade dos resultados analíticos.

Antes de serem submetidos aos referidos procedimentos, os oligoquetas foram previamente congelados, liofilizados e triturados. Todos os resultados estão reportados em peso seco.

Índice geoquímico de distribuição granulométrica

A avaliação da fixação preferencial de metais entre as frações granulométricas estudadas foi realizada através do cálculo do Índice Geoquímico de Distribuição Granulométrica (IGDG). O IGDG, descrito em Santos *et al.* (2002), expressa o percentual da concentração total do elemento fixado à fração fina do solo ou sedimento (Equação 1). Valores de IGDG maiores do que 60% indicam que o elemento está preferencialmente fixado na fração fina. Valores entre 40 e 60% apontam para a ausência de fixação preferencial. Valores de IGDG abaixo de 40% indicam que o elemento está preferencialmente concentrado na fração grossa (Santos *et al.* 2002).

$$IGDG = C_{(fino)} \times 100 / C_{(fino)} + C_{(grosseira)}$$

Equação (I)

Onde,

C_(fino) = concentração do elemento na fração fina (< 0,075 mm);

C_(grosseira) = concentração do elemento na fração grossa (1,7 – 0,075 mm).

Bioensaio agudo com oligoquetas (*Eisenia Andrei*)

Os organismos utilizados nos testes de toxicidade foram cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM. O bioensaio agudo com oligoquetas foi realizado com três réplicas de 200 gramas de solo (peso úmido; ajustado para 40-60% da capacidade de campo) e 10 oligoquetas adultos de peso semelhante por réplica (3) (ASTM, 2004). Antes de serem introduzidos nos ensaios, os oligoquetas foram previamente deixados sobre um papel absorvente umedecido com água destilada, por 24 horas, para o purgamento do conteúdo intestinal. O monitoramento do pH do solo foi efetuado através de solubilização em água na proporção 1:2,5 (solo:água), conforme EMBRAPA (1997). Para o controle, foram preparados solos artificiais conforme as recomendações de Garcia (2004): 70% de areia de quartzo, 20% de caulim e 10% de pó de casca de coco.

Após 14 dias de exposição sob temperatura controlada (20 ± 2°C) e iluminação constante, verificou-se o grau de mortalidade

dos organismos. Os animais sobreviventes foram pesados e enviados para a determinação da concentração total de metais nos tecidos. Antes de serem pesados e enviados para análise química de metais, os organismos foram novamente condicionados para o purgamento do conteúdo intestinal. Os fatores de bioconcentração (FBC) foram calculados com base na razão entre o teor do metal no organismo pela concentração no solo. A avaliação da perda de biomassa dos animais foi realizada através do peso médio dos organismos por cada réplica, pesados antes e após a exposição.

Devido à indisponibilidade de massa de material suficiente para a execução dos bioensaios, somente as amostras A4, P5, P6 e P7 foram testadas com *E. andrei*.

Ensaio de comportamento com oligoquetas (*Eisenia Andrei*)

O ensaio de comportamento foi realizado utilizando caixas plásticas de dimensões definidas (20cm de comprimento, 12cm de altura, e 5cm largura), divididas em duas seções de mesma área (ISO, 2008) com o auxílio de um divisor plástico. Uma seção é preenchida com o solo-teste e a outra com solo não contaminado (neste caso, solo artificial - devido à ausência de um solo *background* da área). Após a remoção deste divisor, dez (10) organismos adultos de peso semelhante são introduzidos na interface entre os solos. Antes de serem utilizados em teste, os organismos foram condicionados por 24 horas em solo artificial, cuja descrição encontra-se descrita no item anterior. O teste foi executado com 3 réplicas, sob temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$)

e foto-período de luz:escuridão (16:8h). Após 48 horas de exposição, foi verificado o número de animais no solo-controle e no solo-teste. Quando mais de 80% dos organismos evitam o solo-teste, considera-se que o solo possui “*função de habitat limitada*” (ISO, 2008).

Bioensaio agudo com microcrustáceos aquáticos (*Daphnia Similis*)

O teste de ecotoxicidade aguda com *D. similis* foi realizado com organismos cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (LECOMIN). O ensaio consistiu na exposição de fêmeas juvenis de 6 a 24 horas de idade a lixiviados (elutriados) de solos contaminados. O ensaio foi executado com 10 réplicas. Após 48 horas de teste, verificou-se o grau de imobilidade dos organismos-teste (ABNT NBR 12713/2004).

A preparação dos elutriados seguiu a metodologia descrita em Cesar *et al.* (2010a) e consistiu na preparação de lixiviados na proporção de 1:4 (solo:meio MS de cultura para *D. similis*), cuja mistura foi agitada a 200 rpm por 24 horas. Após ser centrifugado e filtrado, o sobrenadante foi congelado para a avaliação ecotoxicológica. A composição do meio de cultura (Meio M. S.) está descrita em ABNT NBR 12713/2004. A utilização de elutriados na avaliação da toxicidade potencial de solos, sedimentos e resíduos sólidos é amplamente difundida na literatura e, dessa forma, os resultados obtidos constituem bons parâmetros para comparações futuras.

Devido à indisponibilidade de massa de material suficiente para a execução desses bioensaios, somente as amostras A4, P5, P6 e P7 foram testadas com *D. similis*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização física e química

A caracterização granulométrica dos solos revelou materiais de textura extremamente arenosa (Tabela 1). Os valores de pH variaram entre 3,6 e 7,88 unidades (Tabela 1). Os valores mais ácidos de pH (abaixo de 5,5 unidade) merecem posição de maior atenção, devido à influência potencial deste parâmetro no incremento da biodisponibilidade de metais tóxicos no solo. A mineralogia da fração argila, descrita em Santos (2011), é majoritariamente

composta de caulinita, haloisita, ilita, vermiculita, quartzo e muscovita. Neste sentido, a presença de argilominerais expansivos (vermiculita e ilita) nesses solos é um aspecto importante a ser considerado, uma vez que essas assembléias minerais possuem papel importante na adsorção e seqüestro geoquímico de cátions metálicos. Além disso, embora sejam solos arenosos e com baixos teores de matéria orgânica (< 3%) (Santos, 2011), a presença daqueles minerais de argila confere maior

plasticidade e diminuição da permeabilidade dos materiais, além de ter papel importante na redução da mobilidade dos contaminantes e no comportamento de oligoquetas no solo.

Determinação dos teores de metais em solos totais

A quantificação dos teores de Hg revelou que quatro (4) das sete (7) amostras analisadas estavam acima do limite de prevenção estipulado pelo CONAMA (Res 420, 2009) (0,5 mg/kg) (Tabela 1), concebido com base em avaliação de risco ecológico. De fato, os teores obtidos podem ser considerados relativamente altos, uma vez que se encontram acima do valor estipulado pela Organização Mundial de Saúde (0,050 mg/kg) e do teor de Hg no folhelho médio (0,040 mg/kg) (Turekian & Wedepohl, 1961). Ainda, os teores obtidos estão abaixo daqueles encontrados em áreas degradadas pela garimpagem de ouro em Minas Gerais e na Amazônia brasileira (Rodrigues-Filho & Maddock, 1997; Windmöller *et al.*, 2007; Yallouz *et al.*, 2008; Cesar *et al.*, 2011).

Os teores totais de Cu foram, em geral, baixos, à exceção da amostra P5, cuja concentração estava mais de 3 vezes acima do limite de intervenção agrícola proposto por CONAMA (Res 420, 2009) (200 mg/kg) (Tabela 1), estabelecido com base no risco potencial à saúde humana. Ainda, a referida amostra apresentou concentração de uma ordem de grandeza acima do teor determinado no folhelho médio (39 mg/kg) (Turekian & Wedepohl, 1961). À exceção da amostra P7, os teores obtidos estão abaixo do limite de prevenção (CONAMA, Res 420 2009) (60 mg/kg), do *background* pedogeoquímico do Estado de São Paulo (CETESB, 2005) (35 mg/kg) e de valores determinados em solos tratados com lodo de esgoto (Cesar *et al.*, 2010a).

No caso do Cr, duas (2) das sete (7) amostras analisadas estavam acima do limite de intervenção estabelecido por CONAMA (Res 420, 2009) (150 mg/kg), sendo que as demais amostras apresentaram teores abaixo dos limites de intervenção e prevenção (75 mg/kg) (Tabela 1). À exceção das duas referidas

amostras (P5 e P6), os demais teores encontrados podem ser considerados baixos, visto que estão abaixo do *background* pedogeoquímico do Estado de São Paulo (CETESB, 2005) (40 mg/kg) e do folhelho médio (Turekian & Wedepohl, 1961).

A determinação dos teores de zinco revelou, em média, as mais elevadas concentrações absolutas dentre os metais pesados estudados. Duas (2) das sete (7) amostras estudadas estiveram em desconformidade com o limite de prevenção (300 mg/kg) e de intervenção (450 mg/kg) preconizado por CONAMA (res 420, 2009) (Tabela 1). Neste sentido, a amostra P5 apresenta concentração mais de quatro vezes acima do limite de intervenção agrícola. O Zn é um bom indicador de contaminação por esgoto doméstico e rejeitos metalúrgicos. Dessa forma, os valores obtidos para estas duas amostras podem ser de fato considerados altos, uma vez que se assemelham aos encontrados em solos tratados com lodo de esgoto doméstico e a áreas degradadas por atividades minero-metalúrgicas (Lima, 2009; Cesar *et al.*, 2010a). Além disso, três (3) das sete (7) amostras estudadas excedem o *background* de geoquímica de solos do Estado de São Paulo (60 mg/kg) (CETESB, 2005), enquanto quatro (4) amostras estão acima do teor de Zn no folhelho médio (120 mg/kg) (Turekian & Wedepohl, 1961).

A quantificação das concentrações de Pb indicou que todas amostras estavam acima do limite de prevenção estabelecido por CONAMA (Res 420, 2009) (72 mg/kg). A amostra P5 foi a única a apresentar teor de Pb acima do limite de intervenção agrícola (180 mg/kg), com valor quase 20 vezes acima do permitido (Tabela 1). De fato, as concentrações obtidas podem ser consideradas elevadas, visto que excedem muito o *background* pedogeoquímico do Estado de São Paulo (17 mg/kg) (CETESB, 2005), o teor de Pb no folhelho médio (23 mg/kg) (Turekian & Wedepohl, 1961) e concentrações de Pb em materiais oriundos de áreas degradadas por atividades de mineração (Corsi & Ladim, 2003).

Tabela 1. Determinação granulométrica, de pH e dos teores totais (em mg/kg) de metais pesados em solos superficiais *in natura* (<1,7mm) coletados no CENTRES, Queimados (RJ). S.A. = solo artificial; DI = dado indisponível; * = acima do valor de prevenção (CONAMA, 2009); ** = acima do valor de intervenção agrícola (CONAMA, 2009).

| Amostras | Distribuição Granulométrica (%) | | pH | Hg | Cu | Cr | Zn | Pb |
|---------------|---------------------------------|-------------|-------------|--------------|-----------------|---------------|-----------------|------------------|
| | 1,7-0,075mm | <0,075mm | | | | | | |
| A1 | 87,05 | 12,95 | 4,20 | 0,688* | 10,64 | 32,42 | 1503,57** | 96,87* |
| A3 | 94,94 | 5,06 | 3,60 | 0,081 | 2,13 | 28,00 | 69,82 | 89,54* |
| A2 | 91,67 | 8,33 | DI | 0,881* | 4,97 | 21,08 | 230,32 | 112,19* |
| A4 | 95,42 | 4,58 | 3,90 | 0,148 | 0,62 | 17,39 | 33,69 | 106,91 |
| P5 | 94,55 | 5,45 | 7,67 | 0,783* | 758,75** | 180,36** | 1936,32** | 3529,01** |
| P6 | 92,76 | 7,24 | 7,24 | 0,885* | 50,64 | 154,04** | 278,52 | 107,69* |
| P7 | 93,31 | 6,69 | 7,88 | 0,126 | 2,81 | 18,99 | 49,95 | 119,65* |
| S.A. | - | - | 5,90 | 0,025 | 15,8 | 0,89 | 40,00 | 5,20 |
| Média | 92,82 ± 2,86 | 7,27 ± 2,86 | 5,75 ± 2,04 | 0,513 ± 0,38 | 118,50 ± 282,80 | 64,61 ± 70,68 | 601,23 ± 790,06 | 594,55 ± 1294,01 |
| Mínimo | 87,05 | 5,06 | 3,60 | 0,081 | 2,13 | 17,39 | 33,69 | 89,54 |
| Máximo | 94,94 | 12,95 | 7,88 | 0,885 | 758,75 | 180,36 | 1936,32 | 3529,01 |

Determinação dos teores de metais em distintas frações granulométricas

A quantificação da concentração de metais em distintas frações granulométricas revelou, como esperado, que as frações finas tinham teores significativamente maiores que as grosseiras (Tabela 2). De fato, os teores obtidos nas frações finas foram de duas a três vezes maiores do que aqueles determinados para fração grosseira, sendo que tal comportamento se repetiu para a maioria dos metais estudados. Esta constatação está possivelmente associada ao aumento da superfície específica de contato para as frações finas, bem como a aspectos inerentes à química e mineralogia do solo.

Os valores de IGDG estiveram, em geral e em média, entre 60 e 70% para todos metais e amostras estudadas, indicando uma fixação preferencial desses contaminantes para a fração fina do solo (Tabela 2). Além disso, qualitativamente os resultados não indicam a existência de uma retenção preferencial de metais para a fração fina, i.e., a porcentagem da concentração total fixada naquela fração é semelhante para todos os metais estudados.

A distribuição de metais entre distintas frações granulométricas está intrinsecamente

associada à presença de suportes geoquímicos capazes de promover a adsorção e/ou complexação desses elementos (quando em déficit eletrônico), tais como argilominerais, matéria orgânica e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio. Cesar *et al.* (2011a), p. ex., encontraram valores de IGDG de Hg acima de 90% em materiais extremamente arenosos e impactados pelo despejo de esgoto doméstico, sendo neste caso a matéria orgânica o principal atributo responsável pela complexação de metais na fração fina dos materiais. Cesar *et al.* (2011b), por outro lado, detectaram valores de IGDG de Hg muito menores (ao redor de 35%) em solos oriundos de área impactada por garimpagem de ouro. Naquele caso, possivelmente a abundância de Hg metálico (eletronicamente estável) exerceu papel importante na ausência de fixação preferencial entre as frações fina e grosseira. No que concerne a este estudo, é importante novamente assinalar a ocorrência de argilominerais expansivos nesses solos (Santos, 2011), e seu elevado potencial de seqüestro geoquímico de cátions metálicos, favorecendo sua fixação para a fração fina do material.

Tabela 2. Teores totais de metais pesados (em mg/kg) em distintas frações granulométricas e valores de índice geoquímico de distribuição granulométrica (IGDG) em solos superficiais coletados no CENTRES, município de Queimados (Rio de Janeiro). F^G = fração grosseira (1,7-0,075 mm); F^F = fração fina (< 0,075 mm).

| Amostras | Hg | | | Cu | | | Cr | | | Zn | | | Pb | | |
|----------------------|----------------|----------------|----------|----------------|----------------|----------|----------------|----------------|----------|----------------|----------------|----------|----------------|----------------|----------|
| | F ^G | F ^F | IGDG (%) | F ^G | F ^F | IGDG (%) | F ^G | F ^F | IGDG (%) | F ^G | F ^F | IGDG (%) | F ^G | F ^F | IGDG (%) |
| A1 | 0,61 | 1,18 | 65,9 | 30,0 | 48,7 | 61,9 | 9,9 | 15,6 | 61,2 | 1400,0 | 2200 | 61,1 | 85,4 | 174 | 67,1 |
| A3 | 0,23 | 0,73 | 76,0 | 26,9 | 48,6 | 64,4 | 1,2 | 19,6 | 94,2 | 66,5 | 132 | 66,5 | 84,4 | 186 | 68,8 |
| A2 | 0,83 | 1,48 | 64,1 | 19,1 | 42,9 | 69,2 | 4,4 | 11,3 | 72,0 | 214,0 | 410 | 65,7 | 88,5 | 373 | 80,8 |
| A4 | 0,14 | 0,38 | 73,1 | 16,9 | 27,5 | 61,9 | 0,61 | 0,79 | 56,4 | 32,0 | 68,9 | 68,3 | 0,98 | 112 | 99,1 |
| P5 | 0,75 | 1,37 | 64,6 | 170 | 360 | 67,9 | 716 | 1500 | 67,7 | 1800,0 | 4300 | 70,5 | 3300 | 7500 | 69,4 |
| P6 | 0,84 | 1,42 | 62,8 | 145 | 270 | 65,1 | 49 | 71,6 | 59,4 | 266,0 | 439 | 62,3 | 104 | 155 | 59,8 |
| P7 | 0,12 | 0,20 | 62,5 | 17,4 | 41,1 | 70,3 | 2,6 | 5,8 | 69,0 | 46,0 | 105 | 69,5 | 107 | 296 | 73,4 |
| Média | 0,5 | 1,0 | 67,0 | 60,76 | 119,83 | 65,81 | 111,96 | 232,10 | 68,56 | 546,4 | 1093,56 | 66,27 | 538,6 | 1256,6 | 74,1 |
| Desvio Padrão | 0,3 | 0,5 | 5,3 | 61,72 | 125,93 | 3,14 | 247,11 | 518,08 | 11,69 | 679,77 | 1480,97 | 3,28 | 1218,2 | 2754,6 | 12,7 |
| Mínimo | 0,12 | 0,20 | 62,5 | 17,4 | 27,5 | 61,9 | 0,61 | 0,79 | 56,4 | 32,0 | 68,9 | 61,1 | 0,98 | 112 | 59,8 |
| Máximo | 0,84 | 1,48 | 73,1 | 26,9 | 360 | 70,3 | 716 | 1500 | 94,2 | 1800,0 | 4300 | 70,5 | 3300 | 7500 | 99,1 |

Bioensaio agudo com oligoquetas

O bioensaio agudo com oligoquetas revelou a ausência de efeitos letais significativos para todas as amostras estudadas (Tabela 3), apesar das elevadas concentrações totais de metais nos solos. Esses baixos níveis de mortalidade podem estar associados à presença de argilominerais expansivos nesses solos (Santos, 2011), capazes de diminuir a concentração de metais na solução do solo e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade. De fato, Matske *et al.* (2008) e Cesar *et al.* (2010a) também reportam a diminuição da ecotoxicidade do solo associada à presença daquela tipologia de argilominerais. A concentração de metais na solução do solo possui função vital nos mecanismos de biodisponibilidade de metais para os oligoquetas, visto que exposição dérmica consiste em uma das principais via de exposição aos contaminantes presentes no solo (Vijver *et al.* 2003). Por outro lado, a avaliação da perda de peso dos animais sobreviventes indicou valores significativos (> 20%, com máximo de 24% em relação ao controle) para todas as amostras estudadas (Tabela 3), sugerindo que os organismos estavam submetidos a algum tipo de stress ambiental.

A determinação dos teores de Hg em organismos sobreviventes revelou, à exceção da amostra A4, valores abaixo de uma unidade (Tabela 3), indicando que os organismos absorveram Hg, mas não bioacumularam (Liu *et al.*, 2005). No caso da amostra A4, o baixo valor de pH do solo (3,90 unidades) parece ter tido influência no incremento da incorporação de Hg pelos oligoquetas, tornando-o mais biodisponível. De fato, alguns autores têm reportado valores baixos de FBC para Hg total (Burton *et al.*, 2006; Cesar *et al.*, 2008; Carbonell *et al.*, 2009), sendo poucos casos que apontam valores maiores do que uma unidade. O Hg não possui qualquer função biológica no metabolismo e fisiologia dos oligoquetas e, dessa forma, é de se esperar que o seu potencial de incorporação por estes organismos seja, em geral, baixo. Por outro lado, Burton *et al.* (2006), Veiga *et al.* (2005), Cesar *et al.* (2008) e Cesar *et al.* (2010b) atentam para a

ocorrência potencial de processos de metilação (biotransformação) de formas inorgânicas de Hg no trato intestinal dos oligoquetas, com aumento potencial da ecotoxicidade. Contudo, essa hipótese ainda deve ser melhor estudada e detalhada.

A quantificação das concentrações de Cu em tecido animal indicou a ocorrência de elevados teores biodisponíveis (FBC > 1) para as amostras A4 e P7 (Tabela 3), sugerindo que os oligoquetas absorveram e bioacumularam Cu do solo. Para as demais amostras, os valores de FBC permaneceram abaixo de uma unidade. Neste contexto, é importante notar que o Cu desempenha função importante na histologia e bioquímica celular dos oligoquetas, com papel crucial no transporte de substâncias essenciais entre as células e os tecidos (Lukkari *et al.* 2005). Fenômeno semelhante também foi constatado para o Zn, em que os FBCs também excederam a unidade para algumas amostras. O Zn também é um metal essencial e exerce papel fundamental no crescimento e desenvolvimento dos tecidos dos oligoquetas (Lukkari *et al.* 2005). Lukkari *et al.* (2005) ainda sugerem a ocorrência de mecanismos de estocagem de Zn e Cu pelo metabolismo dos oligoquetas em solos contaminados. Neste caso, tal reserva funcionaria como estoque para futuras demandas fisiológicas e tal processo seria fortemente mediado pela ação de metalotioneínas.

A determinação dos teores de Cr e Pb revelou a ocorrência de baixos valores de FBC (<0,5), apesar dos altos teores totais em solos (Tabela 3), indicando a ocorrência de baixa biodisponibilidade daqueles metais no solo. Estes resultados estão em conformidade com os baixos níveis de mortalidade encontrados, visto que o Pb e o Cr são metais não-essenciais e extremamente tóxicos (Katz & Salem, 1993; Cervantes *et al.* 2001; Caussy *et al.* 2003). Neste sentido, é provável que a presença de argilominerais expansivos nesses solos (Santos 2011) possa ter tido papel importante na adsorção e redução da biodisponibilidade desses metais.

Tabela 3. Bioensaio agudo com oligoquetas: grau de mortalidade dos organismos-teste (M), perda de biomassa (PB), teor total de metais (em mg/kg) em tecidos de oligoquetas sobreviventes (OL) e respectivos fatores de bioconcentração (FBC). SA = solo artificial (controle).

| Amostras | M (%) | PB (%) | Hg | | Cu | | Cr | | Zn | | Pb | |
|----------------------|-------|--------|-------|------|-------|-------|------|------|--------|------|------|------|
| | | | OL | FBC | OL | FBC | OL | FBC | OL | FBC | OL | FBC |
| A4 | 4 | 20,5 | 0,828 | 5,60 | 12,8 | 20,70 | 0,38 | 0,02 | 109 | 3,24 | 19,1 | 0,18 |
| P5 | 0 | 22,1 | 0,076 | 0,10 | 49,5 | 0,07 | 0,55 | 0,00 | 115 | 0,06 | 3,1 | 0,00 |
| P6 | 2 | 28,1 | 0,184 | 0,21 | 22,8 | 0,45 | 0,98 | 0,01 | 110 | 0,39 | 3,1 | 0,03 |
| P7 | 0 | 22,2 | 0,063 | 0,50 | 15,4 | 5,47 | 0,60 | 0,03 | 113 | 2,26 | 3,1 | 0,03 |
| SA | 0 | 13,0 | 0,010 | 0,40 | 11,6 | 0,73 | 0,43 | 0,48 | 110 | 2,75 | 2,6 | 0,50 |
| Média | 1,50 | 23,23 | 0,29 | 1,60 | 25,13 | 6,67 | 0,63 | 0,02 | 111,75 | 1,49 | 7,10 | 0,06 |
| Desvio Padrão | 1,91 | 3,34 | 0,36 | 2,67 | 16,79 | 9,67 | 0,25 | 0,01 | 2,75 | 1,52 | 8,00 | 0,08 |
| Mínimo | 0 | 22,1 | 0,063 | 0,10 | 12,8 | 0,07 | 0,55 | 0,00 | 110 | 0,06 | 3,1 | 0,03 |
| Máximo | 4 | 28,1 | 0,184 | 5,60 | 49,5 | 20,70 | 0,98 | 0,03 | 115 | 3,24 | 19,1 | 0,18 |

Teste de fuga ou ensaio de comportamento com oligoquetas

Os resultados revelaram que 100, 87, 85 e 84% dos organismos evitaram todos os solos-teste: A4, P5, P6 e P7, respectivamente. Dessa forma, embora esses solos não tenham sido capazes de provocar efeitos letais significativos sobre os animais testados, os dados sugerem a ocorrência de efeitos comportamentais (fuga) representativos, apontando a "função de habitat limitada" desses materiais (ISO, 2008).

Por outro lado, é importante destacar que as propriedades dos solos naturais podem desempenhar papel importante no comportamento de fuga dos oligoquetas e, nesse sentido, ainda são escassos os estudos relacionados ao tema, sobretudo em solos tropicais (Natal-da-luz *et al.* 2004). Neste contexto, estudos que visem a elaboração de solos artificiais capazes de refletir atributos físicos, químicos e mineralógicos da pedologia regional também se tornam extremamente importantes, devido à crescente escassez de áreas controle - caso do presente estudo, onde

um solo artificial foi utilizado como referência devido à indisponibilidade de um solo natural local não-contaminado.

Bioensaio agudo com microcrustáceos aquáticos

Os resultados destes ensaios revelaram a ausência de imobilidade significativa (< 5%) para todas as amostras testadas, em um cenário em que os solos poderiam ser lixiviados e a contaminação pudesse atingir sistemas fluviais circunvizinhos. Esses resultados estão em concordância com aqueles obtidos com oligoquetas, que indicaram baixa mortalidade de animais - possivelmente atrelada à baixa concentração de xenobiontes na água intersticial do solo. Novamente, a presença de argilominerais do tipo 2:1 pode ter tido papel crucial na redução da concentração de agentes tóxicos nos elutriatos e, por conseguinte, da ecotoxicidade. Em trabalhos futuros, o emprego de procedimentos de extração seqüencial e/ou seletiva poderão elucidar de modo mais efetivo tais processos.

CONCLUSÕES

Apesar das elevadas concentrações totais de metais pesados nos solos estudados, os bioensaios indicaram baixa ecotoxicidade aguda e baixa biodisponibilidade de metais altamente tóxicos, como o Pb e Cr. Mais de 60% do teor total de metais estava fixado na fração fina do solos, o que poder estar relacionado à presença de argilominerais expansivos nesses materiais e ao aumento a superfície específica de contato. O efeito

comportamental de fuga pareceu ser um indicador mais sensível à presença de agentes tóxicos no solo, porém outros testes deverão ser realizados utilizando solo-natural (*background*) como o controle do ensaio. Por fim, testes de reprodução com oligoquetas talvez possam também fornecer indicadores mais sensíveis à ecotoxicidade de metais nesses solos, e poderão ser executados em trabalhos subsequentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCT) por prover a infra-estrutura laboratorial necessária à execução desta pesquisa, em especial à Coordenação de Análises Mineraias (COAM) e ao Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA). O apoio financeiro do CNPq e da CAPES, através de concessão de bolsa concedida a Ricardo Cesar (Doutorado/CNPq), Maria Carla Santos (Mestrado/CAPES), Juan Colonese (IC/CNPq), Cristiane Moreira (DTI/CNPq) e Stephanie Senderowitz (IC/CNPq), foi igualmente de fundamental importância à realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12713. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.
2. ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the lumbricid earthworm *Eisenia fetida* and the *Enchytraeid* potworm *Enchytraeus albidus***. 2004.
3. BAUN, A.; JUSTESEN, K. B.; NYHOLM, N. Algal tests with soil suspensions and elutriates: A comparative evaluation for PAH-contaminated soils. **Journal of Soils and Sediments**, v.46, n.2, p.251-258, 2002.
4. BURTON, D.T.; TURLEY, S.D.; FISHER, D.J.U.; GREEN, D.J. & SHEDD, T.R. Bioaccumulation of total mercury and monomethylmercury in the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal of Water, Air and Soil Pollution**, v.170, p.37-54, 2006.
5. CARBONELL, G., GÓMEZ, J. P. N., BABÍN, M. M., FERNÁNDEZ, C.; ALONSO, E.; TARAZONA, J. V. Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1309-1319, 2009.
6. CASTILHOS, Z. C.; BIDONE, E. D.; CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; BIANCHINI, M.; ALEXANDRE, N. Z.; NASCIMENTO, T. **Metodologia de monitoramento da qualidade das águas da Bacia Carbonífera Sul Catarinense: ferramenta para gestão em poluição ambiental**. 1. ed. Rio de Janeiro: CETEM: Série Gestão e Planejamento Ambiental, 2010. v. 1. 105 p.
7. CAUSSY, D.; GOCHFELD, M.; GURZAU, E.; NEAGU, C.; RUEDEL, H. Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability and risk. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.56, p. 45-51, 2003.
8. CERVANTES, C.; GARCÍA, J. C.; DEVARIS, S.; CORONA, F. G.; TAVERA, H. L.; GUZMÁN, J. C. T.; SÁNCHEZ R. M. Interactions of chromium with microorganisms and plants. **FEMS Microbiology Reviews**, v.25, p.335-347, 2001.
9. CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; POLIVANOV, H.; CASTILHOS, Z. C.; RODRIGUES, A. P.; ARAÚJO, P. C. Biodisponibilidade de metilmercúrio, zinco e cobre em distintas frações granulométricas de solo contaminado utilizando oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências (UFRJ)**, v.31, p.33-41, 2008.
10. CESAR, R. G.; ALVARO, T. T.; SILVA, M. B.; COLONESE, J. P., PEREIRA, C.; POLIVANOV, H.; EGLER, S.; BIDONE, E.; CASTILHOS, Z. Biodisponibilidade de contaminantes em solos brasileiros tratados com lodo de esgoto: uma abordagem ecotoxicológica utilizando bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. **Geochimica Brasiliensis**, v.24, p.41-49, 2010a.
11. CESAR, R. G.; COLONESE, J. P.; SILVA, M. B.; EGLER, S. G.; BERTOLINO, L. C.; CASTILHOS, Z. C.; EGLER, S. G.; POLIVANOV, H.; BIDONE, E.; PEREZ, D. Avaliação da ecotoxicidade de mercúrio em três tipos de solos utilizando ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. **Geochimica Brasiliensis**, v.24, p.3-12, 2010b.
12. CESAR, R. G.; COLONESE, J.; SILVA, M. B.; EGLER, S. G.; BIDONE, E. D.; CASTILHOS, Z. C.; POLIVANOV, H. Distribuição de mercúrio, cobre, chumbo, zinco e níquel em sedimentos de corrente da bacia do Rio Piabanha, Estado do Rio de Janeiro. **Geochimica Brasiliensis**, v. 25, p. 35-45, 2011.
13. CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; POLIVANOV, H.; CASTILHOS, Z. C.; RODRIGUES, A. P. Mercury, copper and zinc contamination in soils and fluvial sediments from an abandoned gold mining area in southern Minas Gerais State, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v.64, p.211-222, 2011b.
14. CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE

- SANEAMENTO AMBIENTAL. **Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 19 out. 2011.
15. CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução 420**. 2009. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>. Acesso em 03 Set. 2013.
16. CORBI, J. J.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A. DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (estado de São Paulo, Brasil). **Química Nova**, v.29, n.1, p.61-65, 2006.
17. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. In: **MANUAL DE MÉTODOS DE ANÁLISES DE SOLO**. Rio de Janeiro, RJ, 212p, 1997.
18. GARCIA, M. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicology test methods for tropical regions. In: VLEK, P.L.G. *et al.* (Eds.). **Ecology and Development Series**, v. 19, Cuvillier Verlag Gottingen, 282 p. 2004.
19. ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Avoidance Test for Testing the Quality of Soils and the Toxicity of Chemicals – Part 1: Test with Earthworms (*Eisenia foetida*)**. Geneva, ISO. 2008.
20. KATZ, S.A.; SALEM, H. The toxicology of chromium with respect to its chemical speciation: a review. **Applied Toxicology**, v.13, p.217-224, 1993.
21. LIMA, C. A. **Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de zinco**. Rio de Janeiro, 2009. Tese (Doutorado em Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).
22. LIU, X., CHENGXIAO, H., ZHANG, S. Effects on earthworm activity on fertility and heavy metals bioavailability in sewage sludge. **Environment International**, v.31, p.874-879, 2005.
23. LUKKARI, T.; ASTSINKI, M.; VÄISÄNEN, A.; HAIMI, J. Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworms tests. **Applied Soil Ecology**, v.30, p.133-146, 2005.
24. MATZKE, M.; STOLTE, S.; ARNING, J.; UEBERS, U.; FILSER, J. Imidazolium based ionic liquids in soils: effects of the side chain length on wheat (*Triticum aestivum*) and cress (*Lepidium sativum*) as affected by different clays and organic matter. **Green Chemistry**, v.10, p.584-591, 2008.
25. MAXAM, G.; RILA, J., DOTT, W.; EISENTRAEGER, A. Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.45, p.240-246, 2000.
26. NAHMANI, J.; HODSON, M. E.; BLACK, S. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. **Environmental Pollution**, v.145, p.402-424, 2007.
27. NAHMANI, J.; HODSON, M. E.; DEVIN, S.; VIJVER, M. G. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia foetida* exposed to field-contaminated soils. **Environmental Pollution**, v.157, p.2622-2628, 2009.
28. NATAL-DA-LUZ, T.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tool for site-specific assessment of polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.23, n.9, p.2188-2193, 2004.
29. NATAL-DA-LUZ, T.; TIDONA, S.; JESUS, B.; MORAIS, P. V.; SOUSA, J. P. The use of sewage sludge as soil amendment: The need for an ecotoxicological evaluation. **Journal of Soils and Sediments**, v.9, p.246-260, 2009.
30. PARKPIAN, O.; KLANKRONG, K.; DELAUNA, R.; JUGSUJÍNDÁ, A. Metal leachability from sewage sludge amended Thai soils. **Journal of Environmental Science and Health**, v.37, p.765-791, 2002.
31. RODRIGUES-FILHO, S.; MADDOCK, J. E. L. Mercury pollution in two gold mining areas of the Brazilian Amazon. **Journal of Geochemical Exploration**, v.58, p.231-240, 1997.
32. SANTOS, A.R.L., MELO-JUNIOR, G., SEGUNDO, J.E.A.G. Concentração de metais pesados em frações granulométricas de sedimentos de fundo do rio Pitimbu, região sul da Grande Natal (RN): implicações para levantamentos ambientais. **Revista de Geologia (Fortaleza)**, v.15, p.01-08, 2002.
33. SANTOS, M. C. B. **Avaliação da contaminação por metais em solos impactados pela disposição de rejeitos industriais: estudo de caso - CENTRES (Queimados, RJ)**. Rio de Janeiro, 2011. Dissertação (Mestrado em Geoquímica) - Universidade Federal Fluminense-UFF.
34. SISSINO, C. L. S. **Destino dos resíduos sólidos urbanos e industriais no estado do Rio de Janeiro: avaliação toxicidade dos resíduos e suas implicações para o ambiente e para a saúde humana**. Rio de Janeiro, 2002. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ.
35. STRAALLEN, N. M.; DONKER M. H.; VIJVER, M. G.; GESTEL, C. A. M. Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. **Environmental Pollution**, v.136, p.409-417, 2005.
36. TUREKIAN, K. K. & WEDEPOHL, K. H. Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust. **Geological Society American Bulletin**, v.72, p.175-192, 1961.
37. VEIGA, M. M. & HINTON, J. J. 2001. Methylation of Mercury-Organic Compounds by Earthworms. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MERCURY AS A GLOBAL POLLUTANT, 6, Minamata, Japan, Book of Abstracts, 117p.
38. VIJVER, M. G., VINK, J. P. M., MIERMANS, C. J. H., GESTEL, C. A. M. Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.125-132, 2003.
39. YALLOUZ A.V., CESAR R.G., EGLER S.G. Potential application of a semiquantitative method for mercury determination in soils, sediments and gold mining residues. **Environmental Pollution**, v.121, p. 429-433, 2008.
40. WINDMÖLLER, C.C.; SANTOS, R.; ATHAYDE, M.; PALMIERI, H. Distribuição e especiação de mercúrio em sedimentos de áreas de garimpo de ouro no Quadrilátero Ferrífero. **Química Nova**, v.30, n.5, p.1088-1094, 2007.

Manuscrito recebido em: 23 de março de 2013
Revisado e Aceito em: 02 de outubro de 2013