

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade**

**Ana Paula Rufino Santos**

**BIOMONITORAMENTO E EFEITOS GENOTÓXICOS DA EXPOSIÇÃO  
OCUPACIONAL A METAIS EM MINERADORES DE GEMA DO VALE DO  
JEQUITINHONHA**

**Teófilo Otoni**

**2018**



**Ana Paula Rufino Santos**

**BIOMONITORAMENTO E EFEITOS GENOTÓXICOS DA EXPOSIÇÃO  
OCUPACIONAL A METAIS EM MINERADORES DE GEMA DO VALE DO  
JEQUITINHONHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

Co-Orientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina da Silva Faria

**Teófilo Otoni**

**2018**

Ficha Catalográfica  
Preparada pelo Serviço de Biblioteca/UFVJM Bibliotecário  
responsável: Gilson Rodrigues Horta – CRB6 nº 3104

S237b Santos, Ana Paula Rufino.  
2018 Biomonitoramento e efeitos genotóxicos da exposição ocupacional a metais em mineradores de gema do Vale do Jequitinhonha. / Ana Paula Rufino Santos. Teófilo Otoni, 2018.  
62 p. ; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues.

Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Cristina da Silva Faria.

1. Minas artesanais. 2. Contaminação ambiental. 3. Exposição ocupacional. 4. Genotoxicidade. 5. Biomonitoramento. I. Título.

**CDD: 549**

**ANA PAULA RUFINO SANTOS**

**BIOMONITORAMENTO E EFEITOS GENOTÓXICOS DA EXPOSIÇÃO  
OCUPACIONAL A METAIS EM MINERADORES DE GEMA DO VALE DO  
JEQUITINHONHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

Co-Orientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina da Silva Faria

Data da Defesa: 28/05/2018

---

Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues  
Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia

---

Profa. Dra. Márcia Cristina da Silva Faria  
Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia

---

Profa. Dra. Cleide Aparecida Bomfeti  
Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia

---

Prof. Dr. Mauro Lúcio Franco  
Faculdade de Ciências Sociais Aplicadas e Exatas

---

Prof. Dr. Leonardo Meneghin Mendonça  
Centro de Ciências Naturais e Humanas

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço inicialmente a DEUS, meu pai protetor por ter guiado os meus passos até aqui, me dando força e coragem nos momentos de dificuldade.

Aos meus pais e ao meu irmão por todo o apoio e por terem sido minha base em todos os momentos.

A toda minha família e amigos pela torcida e orações constantes.

Ao meu amorzinho Victor, por todo o amor, carinho e apoio, não só no período do mestrado, mas em todos os momentos em que convivemos juntos.

Aos meus orientadores Jairo Lisboa Rodrigues e Márcia Cristina da Silva Faria por todo o conhecimento transmitido, paciência e compreensão.

Aos colegas de curso, amigos e em especial ao importante apoio de Thainá, Andrade, Mayra Soares e Thamyris Torres. Não poderia deixar de citar o significativo auxílio, dedicação e companheirismo do nobre Lucas Silva.

Agradeço à UFVJM pela concessão da bolsa, crucial nesta jornada, à FAPEMIG, ao PPSUS, à Secretaria de Saúde de Itinga, na pessoa de Eliana Castro por toda a gentileza, presteza e disposição em auxiliar no que fosse preciso e à equipe do Laboratório Labcenter – Itaobim/ Itinga pela disponibilidade, atenção e assistência tanto na coleta do sangue, quanto na sua preparação prévia.

## RESUMO

Os seres humanos, em geral, estão em constante exposição a diversos agentes químicos, físicos e biológicos, por vias respiratórias, dérmicas ou de ingestão. Os processos de mineração liberam metais no meio ambiente, que podem se acumular em rochas, solos, água e sedimentos. A biodisponibilidade de metais tóxicos tem relação com o potencial de promover efeitos deletérios e exposição ocupacional. Este estudo foi realizado no Distrito de Taquaral de Minas, localizado no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. O Vale é uma das áreas mais ricas e produtoras de pedras preciosas do Brasil. Cinco minas foram analisadas: Bode (M1), Pirineu (M2), Pinheira (M3), Lajedo (M4) e Marmita (M5). Vários metais tóxicos (Be, Zn, Mn, Ba, Cd, Hg, U) foram encontrados em solos, poeira e poeira sobre as rochas e os solos. Amostras de 22 indivíduos expostos ocupacionalmente e 17 pessoas não expostas, que formaram o grupo de referência, foram analisadas quanto aos elementos químicos. A genotoxicidade foi avaliada pelo Teste de Micronúcleo em células da mucosa bucal esfoliada. As seguintes alterações foram classificadas: células binucleadas (BN), cariolíticas (KL) e micronúcleos (MN). Os resultados do teste MN mostraram um aumento em todas as alterações do grupo exposto em relação aos controles ( $p < 0,05$ ; teste t de Student). A comparação de MN e concentrações de sangue e urina mostrou diferença significativa  $P < 0,05$ . A análise de urina mostrou concentrações de Cr, Ni e Ba, e Pb e As no sangue superiores ao recomendado pelo ATSDR. O aumento dos anos de trabalho elevou as concentrações de elementos no sangue, provavelmente devido à exposição crônica. Então, há riscos potenciais na saúde dos trabalhadores devido à mineração de pedras preciosas.

**Palavras-chave:** Minas artesanais; contaminação ambiental; exposição ocupacional; Genotoxicidade; biomonitoramento.

## ABSTRACT

The humans are general in constant exposition to diverse chemical, physical and biological agents, by respiratory, dermal or ingestion routes. The mining processes release metals into the environment, which can accumulate in rocks, soils, water and sediments. The bioavailability of toxic metals has a relationship with the potential to promote deleterious effects and occupational exposure. This study was carried out in the Taquaral de Minas District, located in the Jequitinhonha Valley, state of Minas Gerais, Brazil. The valley is one of the richest and most gem-producing areas in Brazil. Five mines were analyzed: Bode (M1), Pirineu (M2), Pinheira (M3), Lajedo (M4) and Marmita (M5). Several toxic metals (Be, Zn, Mn, Ba Cd, Hg, U) were found in soils, dust and dust over the rocks and the soils. Samples from 22 individuals occupationally exposed and 17 unexposed persons, who formed the reference group, were analyzed for chemical elements. Genotoxicity was evaluated by Micronucleus Test in exfoliated buccal mucosa cells. The following changes were scored: micronuclei (MN) binucleate (BN) and kariolytic (KL) cells. The results of the MN test showed an increase in all alterations of exposed group compared to controls ( $p < 0.05$ ; Student's t Test). The comparison of MN and concentrations of blood and urine showed significant difference  $P < 0.05$ . Urine analysis showed levels of Cr, Ni Ba, Pb and As in the blood higher than the ATSDR recommended levels. The increase of the years of working elevated the elements concentrations in blood, probably due chronic exposure. Then, there are potential risks in the health of workers due gem mining.

**Keywords:** Artisanal mines; environmental contamination; occupational exposure; genotoxicity; biomonitoring.



## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>9</b>
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>11</b>
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivos Específicos .....	11
<b>3. Revisão de Literatura</b> .....	<b>12</b>
3.1 Extração de gemas e sua influência sobre o desenvolvimento de doenças ocupacionais.....	12
3.2 Toxicidade dos metais no solo.....	15
3.3 Mutagenicidade, Citotoxicidade e Genotoxicidade .....	17
3.4 O teste do micronúcleo e sua relevância na avaliação de alterações citogenéticas em células epiteliais esfoliadas .....	17
2.3.2 Teste do Micronúcleo no Epitélio Bucal .....	17
3.5 Biomonitoramento de Elementos Químicos Essenciais e Tóxicos.....	20
3.6 Biomonitoramento e Exposição ocupacional .....	21
<b>4. Referências Bibliográficas</b> .....	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>29</b>
<b>Gem mining at the Jequitinhonha Valley (Brazil): source of genotoxicity and exposure to toxic elements</b> .....	<b>29</b>
<b>1. Introduction</b> .....	<b>30</b>
<b>2. Materials and Methods</b> .....	<b>31</b>
2.1 Study Area .....	31
2.2 Population Study.....	32
2.3 Analytical Instrumentation .....	33
2.4 Reagents.....	33
2.5 Collection of Soil, Soildust and Stonedust .....	34
2.6 Preparation and analysis of Environmental Samples.....	34
2.7 Collection, preparation and analysis of oral exfoliative cells.....	34
2.8 Collection, preparation and analysis of biological specimens (blood and urine) .....	35

2.9	Statistical analysis .....	36
<b>3.</b>	<b>Results and Discussions .....</b>	<b>36</b>
3.1	Concentration of chemical elements in environmental samples.....	36
3.2	Determination of genotoxic changes in exposed individuals and controls.....	41
3.3	Determination of creatinine .....	46
3.4	Determination of the concentration of Metals in blood and urine .....	46
<b>4.</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>55</b>
<b>5.</b>	<b>Acknowledgments.....</b>	<b>56</b>
<b>6.</b>	<b>References .....</b>	<b>56</b>
	<b>Considerações finais .....</b>	<b>62</b>

## CAPÍTULO 1

### 1. Introdução

Em muitas regiões do país, a busca por gemas e outras raridades minerais constitui-se numa atividade degradante da saúde, do viver e do ambiente dos que nela labutam, muitas das vezes sendo a única alternativa de sobrevivência que se oferece a milhões de trabalhadores braçais, estes expostos a elementos e substâncias diversificadas, agentes desconhecidos previamente e a um conjunto de fatores consideráveis ao desenvolvimento e agravamento de doenças ocupacionais desenvolvidas no cursar das etapas laborais (SANTOS e PÊGO, 2015).

Dentre as regiões difusas pelo território brasileiro que apresentam essa exposição ocupacional, encontra-se o Vale do Jequitinhonha, que é classificado pela Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM, 2003) como uma das mais relevantes áreas produtoras de gemas do mundo, destacando seu reconhecimento mundial em função da qualidade gemológica regional e também pela abundância e diversificação dos minerais ali existentes.

Grande parte da produção mundial de pedras coradas é proveniente do Brasil, estimada em 30%, sendo o estado de Minas Gerais responsável pela metade de toda produção comercializada (TEIXEIRA e OLIVEIRA, 2005). O Vale do Jequitinhonha é reconhecido mundialmente por ser detentor de subsolo riquíssimo responsável pela produção em abundância de gemas, com importantes ocorrências de turmalina, berilo, estanho (cassiterita), feldspato, lítio (amblygonita, espodumênio e petalita), mica, nióbio-tântalo (columbita-tantalita) e quartzo, distribuídos nos municípios de Virgem da Lapa, Rubelita, Coronel Murta, Itinga, Medina e Pedra Azul (CPRM, 2003). A extração de gemas, no entanto, pode ocasionar danos à saúde devido sua exposição ao longo do tempo de trabalho.

Na literatura, estudos a respeito dos efeitos da exploração de minerais à saúde são destaque na Geologia médica ou geomedicina (SELINUS et al., 2005). Dentre os que apresentam maiores riscos, a sílica é considerada a de insalubridade de grau máximo (BRASIL, 1998).

É objetivo da toxicologia ocupacional fundamentar o gerenciamento e a compreensão dos diversos riscos químicos presentes no ambiente de trabalho (CASSARETT, DOUL and KLASSEN, 2001). Dentre esses riscos, Ferreira e Wermelinger (2013) argumentam que o ser humano está exposto a agentes químicos, físicos e biológicos diversos, com um índice de periculosidade elevado. Esta exposição decorre do contato com os mesmos, por meio de vias respiratórias, dérmicas ou ingestão. Desta forma, a saúde de indivíduos expostos a agentes tóxicos, portanto, pode ser analisada ou estimada por meio de monitoramento ambiental ou biomonitoramento humano.

Processos de mineração, em geral, liberam metais e semimetais ao meio ambiente, que estão concentrados nas rochas, nos sedimentos, na água e no solo, que consiste em uma importante fonte tanto na forma orgânica ou inorgânica (KLAASSEN e WATKINS, 2012). Quanto maior a disponibilidade, maior será o potencial tóxico e a bioacumulação da substância no organismo, cuja magnitude dependerá da espécie do metal (OGA, 2008). Nesse contexto, a exposição às substâncias químicas pode provocar efeitos tóxicos e alterações no estado de saúde dos indivíduos que vivem ou tem contato com ambientes dessa natureza (FERREIRA e WERMELINGER, 2013).

Goyer (1996), descreve que todos os metais e seus compostos apresentam toxicidade, que é designada pela capacidade de um elemento químico de causar efeitos sobre organismos vivos, dependendo do grau, quantidade e tempo de exposição ao mesmo. A exposição humana a essas substâncias químicas diversificadas favorece o desenvolvimento de efeitos deletérios, que variam desde danos ao ecossistema como efeitos tóxicos à saúde (neurotoxicidade, efeitos carcinogênicos ou mutagênicos) de forma que é crescente a preocupação com as populações ocupacionalmente expostas. (FLORES e YAMAGUCHI, 2008).

Nas localidades onde ocorre a extração de gemas em garimpos, portanto, acabam-se por estruturar situações que se exemplificam nos impactos incisivos na situação de trabalho e saúde dos garimpeiros, expostos à situações diversas de contato com agentes e elementos químicos, substâncias tóxicas, além de condições insalubres que acabam por combalir seus organismos e predispor o aparecimento de doenças, com conseqüente perda de capacidade laboral e efeitos negativos no cotidiano social destes trabalhadores e de seus dependentes.

Para a realização deste propósito investigativo o estudo teve como recorte espacial de análise as áreas de extração de gemas do distrito de Taquaral de Minas, no município de Itinga, pertencente ao distrito mineralógico de Araçuaí, no Vale do Jequitinhonha– MG.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a exposição ocupacional da população garimpeira dos Distrito de Taquaral de Minas, Itinga-MG, mediante análises ambientais e observação de parâmetros toxicológicos para determinação de possíveis agentes químicos patogênicos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar metais tóxicos e essenciais em amostras de urina e sangue dos garimpeiros voluntários da pesquisa;
- Determinar metais em amostras do solo na superfície e do pó/poeira acumuladas nas rochas e no solo do ambiente subterrâneo de exploração;
- Avaliar a genotoxicidade por meio de teste de micronúcleo em células da mucosa bucal.

### **3. Revisão de Literatura**

#### **3.1 Extração de gemas e sua influência sobre o desenvolvimento de doenças ocupacionais**

Têm-se a mineração como uma atividade que desencadeia intensa degradação ambiental, bem como danos à saúde, que desde os primórdios da humanidade exigiu a retirada de bens minerais da natureza, sendo considerada sua existência associada a um “mal necessário” como aponta Mathis, Brito e Bruseke (1997). Porém, é de fundamental importância para o desenvolvimento econômico de países em todo o mundo.

O Brasil, por processos geológicos particulares, apresenta-se como um dos principais detentores de reservas minerais do planeta, cujo desenvolvimento está intimamente relacionado a demanda e comercialização destes recursos (IBRAM, 2012). Em especial, no Estado de Minas Gerais (MG), são encontradas uma abundância de minerais gemas e amostras raras, constituindo-se como um dos maiores produtores brasileiros.

Nesse contexto, em Minas Gerais, o Vale do Jequitinhonha, é classificado segundo a Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (2003) como uma das mais relevantes regiões produtoras de gemas do Estado, tanto pela qualidade gemológica como por apresentar um subsolo riquíssimo em minerais raros corados.

Pedrosa Soares (2005) afirma que o “garimpeiro é o indivíduo que vende sua força de trabalho, ou seja, é a mão-de-obra”, partindo do pressuposto que a produção se resume em três esferas principais: “O dono da terra, o fornecedor e o(s) garimpeiro(s). O dono da terra é o proprietário do terreno explorado. O fornecedor é aquele que mantém o garimpo, custeando a alimentação e os equipamentos necessários à exploração”.

Mendes (2003) descreve que a primeira monografia escrita a respeito das doenças ocupacionais em mineiros foi por Paracelso (1493-1541), que observou os métodos de trabalho, as substâncias e doenças às quais estavam expostos diariamente.

Assim, à luz das concepções teóricas, a toxicologia ocupacional aplica os princípios e metodologias da toxicologia básica visando à compreensão e gerenciamento dos riscos presentes no ambiente de trabalho cujo objetivo é de prevenir os efeitos adversos à saúde decorrentes de exposições a agentes químicos, desde que os mesmos sejam avaliados e

gerenciados sistematicamente (KLASSEN, 2008). Especificamente, as exposições ambientais podem se manifestar em naturezas diversas, sendo a exposição química o principal foco da toxicologia (ZACARIAS, 2011).

A toxicologia inicialmente se restringia a utilização e compreensão de venenos, termo este conhecido por muitos como uma porção mortal que ao ser ingerida pode gerar danos imediatos ou até fatais. Partindo deste pressuposto, alguns conceitos foram se consolidando, como o de toxicidade, definido como qualquer efeito adverso provocado por um agente em um organismo vivo; enquanto o termo toxicante se refere a algo com a característica de produzir efeito indesejável ou adverso a saúde (JAMES e ROBERTS et al., WILLIAMS, 2000).

Diante de tais circunstâncias, as exposições a agentes tóxicos podem ser agrupadas em quatro categorias conforme Manahan (1999): a exposição aguda e crônica, locais ou sistêmicas. A exposição aguda ocorre em um período curto, entre segundos ou poucas horas, afetando a pele, olhos ou membranas das mucosas; a crônica local por sua vez pode provocar efeitos nos mesmos locais da aguda, porém em um intervalo de tempo longínquo. A exposição aguda sistêmica está associada a inalação ou ingestão, é breve, porém pode afetar alguns órgãos como o fígado. A exposição crônica sistêmica por sua vez, está relacionada a um longo período de contato com o agente agressor, sendo neste caso, a do objeto de estudo da pesquisa.

A saúde ocupacional nesse sentido possui sua abordagem na prevenção, rastreamento e diagnóstico precoce dos agravos relacionados ao trabalho. Incluem-se acidentes no decorrer das atividades, contaminação por metais tóxicos e as pneumoconioses (LIMA, 2009).

Denominada por Zenker em 1866, as pneumoconioses se agrupam entre as doenças ocupacionais ocasionadas pela inalação de poeira mineral patogênica. Castro, Silva e Vincentim (2005), destacam aquelas quando se trata de exploração mineral: a beriliose (ocasionada pelo elemento berílio) e a silicose a mais comum e frequente do grupo de doenças pulmonares, onde o pó da sílica é desprendido em operações de lavra. Ramazzini (2000), caracteriza essa atividade como insalubre por afetar a saúde dos trabalhadores das minas, com efeitos lesivos à saúde humana.

Em seu trabalho que enfatiza a respeito dos riscos ocupacionais que afetam a saúde do trabalhador, Colacioppo (2005), ressalta que na realidade brasileira ainda existem

situações diversas em que o trabalhador em sua vida laboral pode estar exposto a um agente agressivo, apresentando efeitos imediatos como os acidentes ou a longo prazo, como as doenças ocupacionais. Garimpeiros e trabalhadores rurais são os principais afetados, uma vez que, não podem muitas vezes receber atenção médica por estarem distantes fisicamente das equipes de saúde.

Tambellini (1985) conceitua a saúde do trabalhador como a área do conhecimento que estuda os fatores que afetam a saúde dos trabalhadores e seus familiares, e as consequências da ação destes fatores, as doenças, que incidem em determinada população. Concomitante, o Ministério da Saúde do Brasil (2001) considera as minas subterrâneas de extração de gemas como atividades extrativistas que apresentam grandes riscos à saúde, exemplificadas pelas insuficientes condições de segurança, saúde e higiene. Faustman e Omenn (2001 apud Omenn, 2007), consideram os riscos à saúde ambiental como “a caracterização científica sistemática dos potenciais efeitos adversos à saúde, decorrentes da exposição humana a agentes ou situações perigosas”.

No caso dos metais, estes são importantes determinantes de contaminação em ambientes de extração mineral. Apesar de essenciais, alguns podem se tornar tóxicos quando ultrapassadas as concentrações limite, outros não existem naturalmente em nenhum organismo vivo, e sua presença assim pode ser extremamente prejudicial, como é o caso do chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), arsênio (As) e alumínio (Al), cuja relação de toxicidade varia em função da natureza e espécie do metal envolvido (FERREIRA e WERMELINGER, 2013).

Uma característica especial dos metais refere-se a sua tendência de se acumular em tecidos biológicos e no ambiente cuja eliminação ocorre de forma lenta nesses casos. Uma vez que estão no sistema biológico, eles se mantem por um período longo e a exposição pode resultar em efeitos prejudiciais à saúde. Constata-se a exposição ambiental e funcional e posterior introdução de metais tóxicos no organismo por exemplo, mesmo que em concentrações baixas, constitui-se como um grave problema de saúde pública pelo potencial de se acumular no corpo humano (FERREIRA e WERMELINGER, 2013). Tal fato se aplica em trabalhadores do setor de mineração, industrial ou agrícola ou à aquelas pessoas que utilizam os compostos metálicos em suas ocupações (JEFFERY, 2001).

De diversas maneiras, alguns fatores incidem decisivamente na exposição laboral aos metais com características tóxicas. Klaassen e Watkins (2012) os classifica em: dose, via,



a duração e a frequência de exposição além de outras variáveis como idade, sexo e capacidade de biotransformação do organismo.

O desencadeamento da sintomatologia após a introdução de um agente tóxico ao organismo depende de um período de tempo determinado, de tal forma que as intoxicações agudas surgem pouco tempo após a absorção enquanto as crônicas são tardias devido ao processo cumulativo ser gradual e lento (ROCHA, 2009). Análises toxicológicas, tais como a determinação de metais em espécimes biológicas como sangue, urina e cabelo, dessa forma, estão relacionadas tanto a eventos de longo prazo como aos efeitos são agudos, estes bem evidentes (FERREIRA e WERMELINGER, 2013).

### **3.2 Toxicidade dos metais no solo**

Distribuídos por toda a natureza, alguns metais são considerados micronutrientes essenciais às plantas. Outros elementos ocorrem por sua vez, em valores baixos em solos dependendo da composição do material de origem, dos processos de desenvolvimento do solo, - processo de formação do solo - e das características ambientais da área (CAIRES, 2009).

Apesar de estarem associados à capacidade tóxica, uma série de metais constituem-se como elementos acessórios na constituição das rochas e possuem ocorrência natural no ambiente como o Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, Mo e o Co benéfico a plantas, enquanto o Pb, Cd, Hg são potencialmente tóxicos sem qualquer essencialidade ao solo e a função biológica do organismo (BIONDI et al., 2011). Tais elementos, em concentrações elevadas, podem ocasionar abortos, má formação neurológica e cânceres - pele, pâncreas e pulmão (DIXON, 1997), comprometendo, portanto, a saúde dos indivíduos e a qualidade ecossistêmica.

Os solos se comportam como um compartimento “tampão” para elementos químicos (orgânicos e inorgânicos) e xenobióticos. Se tratando dos elementos inorgânicos, como os metais tóxicos, as características físicas e químicas dos solos os retêm em sua matriz minimizando a disponibilidade. Porém, a situação agrava-se quando o limite de retenção é ultrapassado (CAIRES, 2009).

Caires (2009) ainda defende que por estarem estritamente relacionados à “gênese” dos solos, os metais são considerados compostos naturais das rochas e ocorrem em teores

mínimos em solos virgens, ou seja, aqueles não antropizados, cujas entradas naturais estão voltadas a sua formação ou deposições atmosféricas. Porém, conforme os diversos usos estabelecidos, alguns cenários podem facilitar a entrada em proporções superiores ao que ocorre naturalmente.

Júnior (2016) esclarece que a quantificação de metais ou metaloides em solos constitui-se como tarefa complicada pelo fato destes elementos serem constituintes morfológicos naturais ou em muitos casos, inseridos por atividades antropogênicas: “o uso de fertilizantes ou pesticidas, os depósitos irregulares de resíduos e a mineração”, elementos estes com potencial tóxico cuja permanência é indefinida e com capacidade de provocar riscos à saúde humana. O Cd e o Pb, por exemplo, apresentam característica de imobilidade e tendem-se a acumular no solo.

Por esta ampla distribuição nos diversos compartimentos ambientais, o conhecimento dos teores naturais dos metais torna-se característica de fundamental importância, uma vez que permite a definição de parâmetros orientadores de qualidade, como valores de referência, que podem ser aplicados em práticas de monitoramento a fim de verificar a existência de possíveis contaminações (CAIRES, 2009).

Neste aspecto, a contaminação pode ser definida como a ocorrência de um elemento em um teor superior a aquele encontrado em uma determinada área, baseando-se nos índices de referência específicos, que pode ocasionar efeitos adversos a organismos vivos (PIERZYNSKI et al., 2005).

Atualmente, no Brasil, o CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente) é o órgão responsável por estabelecer valores orientadores de qualidade do solo para metais e substâncias tóxicas a partir dos dados obtidos pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) e outros órgãos. A legislação brasileira estabelece três valores orientadores distintos: o de referência de qualidade (VRQ) – baseado na avaliação dos teores naturais dos metais no solo não incluindo a influência de atividades antrópicas; o Valor de Prevenção (VP), por sua vez, se apresenta intermediário ao VRQ e o de investigação, definido como o valor limite do metal no solo (BIONDI et al., 2011).

### **3.3 Mutagenicidade, Citotoxicidade e Genotoxicidade**

#### **3.4 O teste do micronúcleo e sua relevância na avaliação de alterações citogenéticas em células epiteliais esfoliadas**

Dentre as metodologias para avaliação da toxicidade e posterior identificação de potencial carcinogênico ou de mutagenicidade oriundos de exposição a produtos químicos (RIBEIRO et al., 2004), o ensaio de micronúcleo é frequentemente utilizado na avaliação das consequências genotóxicas de exposições ambientais (ERGENE et al., 2007; QIU et al., 2011).

Flores e Yamaguchi (2008) consideram o teste do micronúcleo como um teste citogenético de investigação de células previamente expostas a agentes químicos cujo objetivo é de detectar quebras ou perdas cromossômicas.

Entende-se por mutagenicidade, a capacidade de algum agente provocar alterações súbitas no material genético, sendo este efeito persistente e permanente na estrutura ou conteúdo do mesmo (DEARFIELD et al., 2002; OGA, 2008). A mutação, nesse sentido, é uma alteração permanente no material genético, ocorrida tanto em células somáticas como germinativas, alterações estas classificadas em gênicas ou cromossômicas (GRIFFITHS et al., 1998).

A citotoxicidade, por sua vez, consiste na capacidade de um composto provocar alteração metabólica nas células, culminando ou não em sua morte (FRESHNEY, 2005).

Um agente genotóxico, em contrapartida, é aquele que possui a capacidade de danificar uma molécula de DNA (MITCHELMORE e CHIPMAN, 1998). Compostos que apresentam genotoxicidade, então, são aqueles que podem provocar efeitos sobre o DNA: lesões na fita, síntese não programada, efeitos estes que podem ser transitórios por serem passivos de reparos (DEARFIELD et al., 2002).

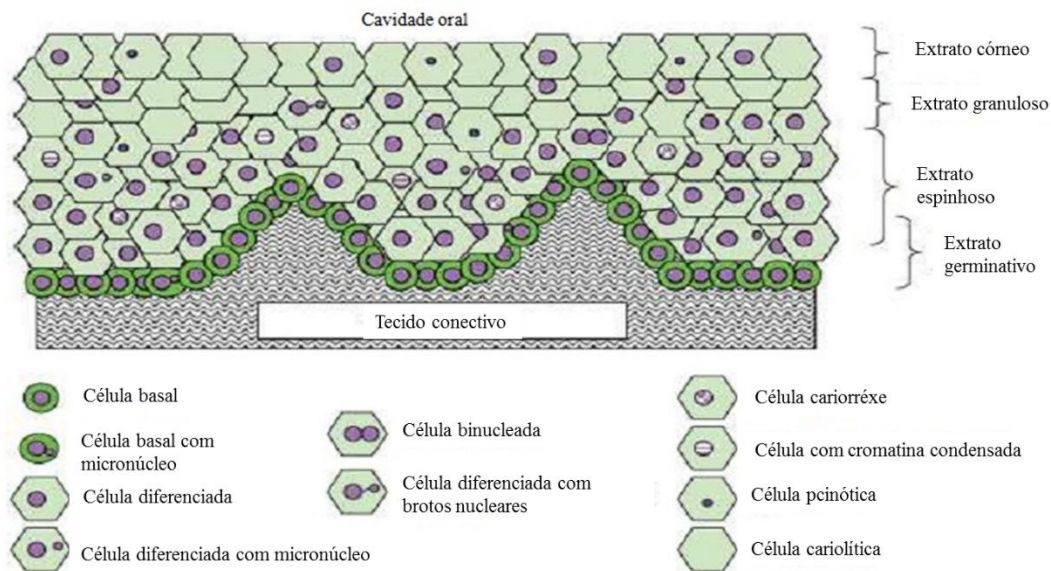
#### **2.3.2 Teste do Micronúcleo no Epitélio Bucal**

Proposto por Stich Curtis e Parida (1982) na década de 80, o Teste de Micronúcleo em células esfoliativas objetiva o biomonitoramento de populações humanas expostas a mutágenos.

Em seres humanos, tal teste pode ser facilmente avaliados em eritrócitos, linfócitos e células epiteliais esfoliadas tanto do epitélio oral, nasal, ou bucal, a fim de mensurar o dano genético/genômico *in vivo*, em situações em que o indivíduo esteja exposto ocupacionalmente/acidentalmente ou na avaliação de estilos de vida, detecção de câncer ou doenças neurodegenerativas (FENECH, 2010; HOLLAND et al., 2008).

A mucosa bucal consiste em uma área formada por um “epitélio escamoso estratificado que consiste de quatro camadas celulares distintas” (THOMAS et al., 2009), representadas na Figura 1. O estrato córneo compreende células perdidas constantemente por meio de atividades diárias, como a mastigação. Tanto o estrato granuloso (células granulares) e o espinhoso (células espinhosas) são compostos por células diferenciadas e apoptóticas. Sob estas camadas encontra-se o estrato germinativo, formado por células basais que mantêm o processo de divisão ativa a fim de manter o perfil, estrutura e integridade da mucosa bucal. (DARZYNKIEWICZ et al., 2011).

Figura 1 – Representação do Epitélio Bucal



Fonte: Adaptado de Thomas et al. (2009).

O epitélio oral, portanto, é mantido pela renovação contínua celular que, por mitose, novas células são produzidas na camada basal e migram à superfície para substituir as

perdidas. É na camada basal que são encontradas as células tronco que podem apresentar danos genéticos como os micronúcleos, cujas células filhas que podem ou não os conter, diferenciam-se, migram a camada superficial e são esfoliadas dentro da cavidade bucal (DARZYNKIEWICZ et al., 2011; THOMAS et al., 2009).

O micronúcleo (MN) é definido como uma pequena massa nuclear delimitada por membrana e separada pelo núcleo principal, sendo formado durante o processo de divisão celular, na telófase, no momento em que o envelope nuclear é reconstruído ao redor dos cromossomos das células filhas. Os mesmos constituem-se por fragmentos “cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros” que são perdidos durante o processo de divisão nuclear e por tal motivo excluídos do núcleo principal das células filhas. A detecção dos MN, portanto, representam perda da cromatina em função do dano estrutural cromossômico ou do aparelho mitótico, sendo considerados como mutações transmitidas às células, uma vez que, o dano genético se manifesta nas células filhas (BONASSI et al., 2003; FENECH, 2010; RIBEIRO, 2003).

Neste processo, algumas células podem degenerar-se formando as com cromatina condensada (aquelas que apresentam processos de apoptose). Células cariorréticas, cujos núcleos encontram fragmentados, além de indicar a fase final do apoptose, podem indicar biomarcadores de doenças e exposição a agentes genotóxicos. As picnóticas se apresentam com desintegração nuclear ou podem perder totalmente o material nuclear, constituindo as células cariólíticas também conhecidas como “fantasmas”. Outras células podem ser bloqueadas quando estão no estágio binucleado, o que indica falha do processo de mitose, exibindo brotos nucleares ou “*broken eggs*” (CHEN et al., 2006; HOLLAND et al., 2008; THOMAS et al., 2009; TOLBERT, SHY, ALLEN, 1992).

Todos estes biomarcadores de dano genômicos, como os MN, brotos nucleares, os de morte celular - cariólise, podem ser observados em testes com células bucais, oportunizando uma avaliação mais abrangente do que apenas o MN, quando os conceitos de citotoxicidade e efeitos citostáticos estão em pauta (STICH e ROSIN, 1983).

A eficácia do teste do MN em células do epitélio oral tem sido reconhecida por diversos estudos (CAVALLO, 2005; SARAN et al. 2008) na detecção de efeitos genotóxicos ou exposição a mutágenos. Tal teste, dessa forma, pode ser aplicado nas mais diversificadas situações em que o indivíduo esteja exposto a algum agente, garantindo resultados pragmáticos e incisivos.

Garaj-Vrhovac e Zeljezic (2002), por exemplo, realizaram um estudo que comprovou a eficácia do teste. Após oito meses sem a exposição a alguns produtos, a frequência de micronúcleos e aberrações cromossômicas sofreu um decréscimo relevante na população estudada, o que o fortalece como importante marcador biológico na indicação de mutagenicidade e monitorização de organismos. Desta forma, este bioensaio é um excelente indicador de alterações celulares.

### **3.5 Biomonitoramento de Elementos Químicos Essenciais e Tóxicos**

A determinação da concentração de elementos essenciais e tóxicos em fluidos biológicos (biomonitoramento) tanto na exposição de elementos tóxicos ou avaliação nutricional tem sido utilizada em diversos estudos clínicos. Oga (2008) cita o monitoramento biológico como importante instrumento de avaliação, uma vez que busca analisar os agentes presentes no ambiente de trabalho por meio de tecidos e secreções dos indivíduos, incluindo-se cabelo, unha, sangue e urina (dependendo do metal), para avaliar a exposição e o risco à saúde, mediante parâmetros dos indicadores biológicos ou biomarcadores.

Para compreender o conceito de biomonitoramento, é necessário considerar a dose externa, que é entendida como a concentração de elementos tóxicos no ar, água, poeira, alimentos em que determinada população está exposta. Esta dose externa é absorvida pelos órgãos (pulmão, intestino, pele). O biomonitoramento permite dessa forma, a avaliação da dose interna deste elemento ou do seu metabolito em um tecido ou fluido biológico (BATISTA, 2009).

Os elementos essenciais são aqueles utilizados unicamente para manter as funções fisiológicas normais. Em caso de deficiência dos mesmos, o organismo pode apresentar disfunções, seja no ciclo de vida ou no crescimento saudável, uma vez que estes estão presentes em proteínas fundamentais na execução de funções biológicas específicas. Incluem aqueles com média e baixa toxicidade (onde concentrações elevadas do metal são necessárias para gerar um efeito tóxico (DOULL'S, 2001).

Os elementos essenciais se subdividem conforme as concentrações encontradas, sendo que aqueles com  $1 \text{ mg L}^{-1}$  em fluidos biológicos ou  $< 100 \text{ mg Kg}^{-1}$  em tecidos são denominados de elementos “maiores”, incluem neste grupo o “ potássio, cálcio, magnésio,

ferro, silício, fósforo e enxofre”. Os encontrados em concentrações menores que  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  em fluidos biológicos ou  $<100 \text{ mg Kg}^{-1}$  em tecidos corporais são conhecidos como “menores”. Outra subclassificação, inclui os “ultra-traço”, que compreendem os que se encontram em concentrações menores que  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  em fluidos biológicos. Todavia, um grupo de elementos químicos não apresentam qualquer função fisiológica conhecida, são os elementos não essenciais ou tóxicos: chumbo, cádmio, mercúrio, arsênio, cromo, vanádio e antimônio, que mesmo em concentrações traço apresentam efeitos adversos (BATISTA, 2009; SAVORY e WILLS, 1992).

Parsons e Barbosa (2007) explanam que a toxicidade de qualquer elemento dependerá de alguns fatores como: “concentração, período e nível de exposição como também da forma química, isto é, das espécies químicas do elemento presentes no indivíduo”. O estudo da toxicidade, assim, deve considerar características dos grupos toxicantes, já que enquanto todos os elementos químicos são tóxicos em determinado grau de exposição, muitos nutrientes são essenciais à saúde.

Os métodos analíticos, portanto, estão sendo cada vez mais utilizados ou validados na determinação de elementos essenciais e tóxicos. Dentre eles, o espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) consiste em um instrumento responsável por separar íons em movimento, com base em suas razões massa-carga ( $m/z$ ). Definida como ferramenta versátil, sensível e largamente utilizada na identificação de elementos em amostras, o ICP-MS possui aplicações diversificadas: na geoquímica, área ambiental, biológica e de alimentos, pelos baixos limites de detecção, seu alto grau de seletividade, a sua razoável precisão e exatidão, à rápida detecção das razões isotópicas, ao pequeno volume de amostras e à capacidade multielementar; pois cerca de 90% dos elementos podem ser determinados com limites de detecção na faixa de  $0,1$  a  $0,001 \mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) em soluções aquosas (VEIGA, 2000). O ICP-MS portanto, se mantém na vanguarda como técnica analítica sensível e versátil, assumindo um poderoso papel na análise de elementos.

### **3.6 Biomonitoramento e Exposição ocupacional**

Pela similitude com o objeto analisado, várias obras oportunizam subsídios teóricos à investigação, dentre elas, destacam-se alguns estudos de biomonitoramento que

estarão elencados a seguir: o de Wegner et al. (2000), que objetivou averiguar o grau de exposição ocupacional ao elemento químico berílio em garimpeiros de áreas de extração de águas marinhas e esmeraldas, na Alemanha. Constatou-se por meio de análises de urina que no desenvolver da profissão os mesmos estão expostos a metais carcinogênicos como o alumínio, crômio, níquel e chumbo. Cheyng et al. (2014), por sua vez, buscou averiguar o nível de exposição humana e ambiental ao cobalto, na África, por meio de análises de poeira, solos contaminados e urina.

Paruchuri et al. (2010), descreveu questões referentes a exposição ocupacional e ambiental ao mercúrio em áreas de mineração de pequena escala ou artesanal, de extração do ouro, evidenciando a exposição crônica à poeira contaminada. A publicação de Steckling et al. (2008) que seguiu as mesmas diretrizes do estudo anterior, discorre também a respeito da exposição ao mercúrio tanto da população residente como dos garimpeiros durante o trabalho. Em específico foram analisadas amostras de sangue, urina e cabelo dos moradores das áreas contaminadas pela atividade minerária.

Outra pesquisa foi conduzida por Molina-Villalba et al. (2015) na Espanha, a fim de verificar a exposição de crianças ao arsênio e a alguns metais traços (cádmio, mercúrio, manganês e chumbo). Resultados conclusivos indicam uma concentração representativa de Cd e Hg naquelas que residem em áreas próximas às zonas industriais e de mineração, indivíduos estes que apresentam uma vulnerabilidade acentuada em relação aos efeitos tóxicos e neurotóxicos destes metais.

Outro estudo de biomonitoramento ocorreu na região da República do Congo, com o objetivo de comparar as concentrações do cobalto e outros metais em indivíduos que viviam próximos à mineração e a aqueles que residiam em localidades mais distantes a fim de avaliar a exposição. As análises foram feitas em amostras de urina por meio da técnica de Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS) cuja conclusão evidenciou a existência de uma maior concentração de metais nos que habitavam em regiões próximas a mineradora (BANZA et al., 2009).



#### 4. Referências Bibliográficas

BANZA, Célestin Lubaba Nkulu et al. High human exposure to cobalt and other metals in Katanga, a mining area of the Democratic Republic of Congo. **Environmental Research**, [s.l.], v. 109, n. 6, p.745-752, ago. 2009.

BATISTA, Bruno L. et al. Reference concentrations for trace elements in urine for the Brazilian population based on q-ICP-MS with a simple dilute-and-shoot procedure. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 20, n. 8, p.1406-1413, 2009.

BIONDI, Caroline Miranda et al. Teores de Fe, Mn, Zn, Cu, Ni E Co em solos de referência de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.1057-1066, jun. 2011.

BONASSI, Stefano et al. Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus project. **Mutation Research/reviews In Mutation Research**, [s.l.], v. 543, n. 2, p.155-166, mar. 2003.

BRASIL. Leis. Segurança e medicina do trabalho: lei nº 6.514, de 22 de dezembro de 1977. São Paulo: Atlas, 1998.

CAIRES, Sandro. M. D. E. **Determinação Dos Teores Naturais De Metais Pesados Em Solos do Estado de Minas Gerais como Subsídio ao Estabelecimento de valores de Referência de Qualidade**. 2009. 270 p. Tese (Doutorado) - Curso de Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, Vicosá, 2009.

CASARETT, L., DOULL, J; KLAASSEN, C. Casarett and Doull's toxicology. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division. (2001).

CASTRO, Hermano Albuquerque de; SILVA, Carolina Gimenes da; VICENTIN, Genésio. Estudo das internações hospitalares por pneumoconioses no Brasil, 1984-2003. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.150-160, jun. 2005.

CAVALLO, Delia et al. Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. **Mutation Research/genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, [s.l.], v. 587, n. 1-2, p.45-51, nov. 2005.

CHEN, Connie et al. Cytogenetic damage in buccal epithelia and peripheral lymphocytes of young healthy individuals exposed to ozone. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.131-137, 1 mar. 2006.

CHEYNS, Karlien et al. Pathways of human exposure to cobalt in Katanga, a mining area of the D.R. Congo. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 490, p.313-321, ago. 2014.

COLACIOPPO, Sérgio. Saúde do trabalhador e riscos químicos. In: PHILIPPI JR, A (ed.). Saneamento, saúde e ambiente – Fundamentos para um desenvolvimento sustentável. Manole, p. 517-552. Barueri, 2005.

CPRM – Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais. Mapa Geológico de Minas Gerais.: CPRM/COMIG, (Meio digital). Belo Horizonte, 2003.

DARZYNKIEWICZ, Zbigniew. et al. Laser scanning cytometry for automation of the micronucleus assay. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.153-161, 16 dez. 2010.

DEARFIELD, Kerry L et al. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. **Mutation Research/genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [s.l.], v. 521, n. 1-2, p.121-135, nov. 2002.

DIXON, Henry B.F. The Biochemical Action of Arsonic Acids Especially As Phosphate Analogues. **Advances In Inorganic Chemistry**, [s.l.], p.191-227, 1996.

ERGENE, Serap et al. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. **Environment International**, [s.l.], v. 33, n. 7, p.877-885, out. 2007.

FENECH, Michael et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.125-132, 16 dez. 2010.

FERREIRA, Aldo P; WERMELINGER, Eduardo D. Concentrações séricas de metais e suas implicações para a saúde Pública. Serum metal concentrations and its implications for public health. Journal Health Sciences Institute. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro-RJ, Brasil. 2013.

FLORES Mônica; YAMAGUCHI Mirian Ueda. Teste Do Micronúcleo: Uma Triagem Para Avaliação Genotóxica. Uma triagem para avaliação genotóxica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 337-340, 2008.

FRESHNEY, Ian R. Culture of animal cells: A manual of Basic Technique. 5 ed. New York: Wiley-Liss, 2005 *apud* BOGO, D. Avaliação da atividade antitumoral *in vitro* e *in Vivo* de compostos de líquens. 2012, 110 f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campina Grande, 2012.

GARAJ-VRHOVAC, Vera; ZELJEZIC, Davor. Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay. **Journal Of Applied Toxicology**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.249-255, 2002.

GRIFFITHS, Helen R. et al. Molecular and Cellular Effects of Ultraviolet Light-Induced Genotoxicity. **Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.189-237, jan. 1998.

GOYER, Robert A. Toxic Effects of Metals. In: KLAASSEN, C.D (Ed.). Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons, New York: McGraw Hill, p.691-736. 1996.

HOLLAND, Nina et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutation Research/reviews In Mutation Research**, [s.l.], v. 659, n. 1-2, p.93-108, jul. 2008.

IBRAM. Informações e Análises da Economia Brasileira – Instituto Brasileiro de Mineração (IBRAM), 7º Edição. Brasília/DF. Dezembro/2012.

JEFFERY, W.G. A world of metals: finding, making and using metals. 2nd ed. Ottawa: ICME, 60 p. 2001.

JÚNIOR. Rui M. C. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de elementos traço em amostras de solo e plantas de girassol utilizando espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado**. 97 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2016.

KLAASSEN, Curtis. D. Casarett and Doull's. Toxicology: The Basic Science of Poisons. Toxic effects of metals. USA, McGraw-Hill, 7th edition, p. 931 – 979. 2008.

KLAASSEN, Curtis.; WATKINS, B.J. Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull. 2ª ed, Porto Alegre: Editora AMGH, 2012.

MANAHAN, Stanley E. Environmental Chemistry, 7th ed.: Lewis Publishers. 912p. New York. 1999.

MATHIS, Armin; BRITO, Daniel. C. de; BRUSEKE, Franz. J. *Riqueza volátil: a mineração de ouro na Amazônia*. Belém: Editora CEJUP, 290p. 1997.

MENDES, R. Patologia do trabalho. 2. ed. ver. ampl. São Paulo: Atheneu, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. Representação no Brasil da OPAS/OMS. Doenças Relacionadas ao trabalho: manual de procedimentos para serviços de saúde. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil, 2001.

MITCHELMORE, C.I; CHIPMAN, J.k. DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. **Mutation Research/fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis**, [s.l.], v. 399, n. 2, p.135-147, mar. 1998.

MOLINA-VILLALBA, Isabel et al. Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas. **Chemosphere**, [s.l.], v. 124, p.83-91, abr. 2015.

OGA, S. Fundamentos da Toxicologia. 3 ed. São Paulo: Editora Atheneu. 2008.

OMENN, Gilbert S. The risk assessment risk management paradigm. In: ROBSON, M.G.; TOSCANO, W (Eds.). Risk assessment for environmental health. Forword by Berwick USA. Cap. 2, p. 11-31, 628 p. 2007.

PARUCHURI, Yasaswi et al. Occupational and environmental mercury exposure among small-scale gold miners in the Talensi–Nabdam District of Ghana's Upper East region. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 408, n. 24, p.6079-6085, nov. 2010.

PEDROSA-SOARES, Antônio C.; DIAS, P.H.A. Geologia e Recursos Minerais do Município de Araçuaí, Minas Gerais.. In: MELO, M.C (Org.). Cartografia Temática. v. 1, 1 ed. Belo Horizonte, CETEC-Centro Tecnológico de Minas Gerais, p. 832. 2005.

PARSONS, Patrick J.; BARBOSA, Fernando. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s.l.], v. 62, n. 9, p.992-1003, set. 2007.

PIERZYNSKI, Gary.M. et al. Soil and Environmental Quality. P.331-361, 2005

QIU, Li. et al. Path Analysis of Biomarkers of Exposure and Early Biological Effects among Coke-Oven Workers Exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, [s.l.], v. 16, n. 6, p.1193-1199, 1 jun. 2007.

RAMAZZINI, Bernardino. As doenças dos trabalhadores. 321p. Tradução de Raimundo Estrêla. Fundacentro. 3. Ed. São Paulo, 2000.

RIBEIRO, Daniel Araki et al. Fluoride does not induce DNA breakage in Chinese hamster ovary cells in vitro. **Brazilian Oral Research**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.192-196, set. 2004.

ROCHA, Adriano F. Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública. Curso de Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto. 2009.

SANTOS, Ana. P. R, PÊGO, Jenny. S. Riscos associados aos garimpos de gemas no povoado De Taquaral, Itinga, MG: dois contextos dilemáticos. IFNMG. Araçuaí. 2014.

SARAN, Rashmi et al. Risk assessment of oral cancer in patients with pre-cancerous states of the oral cavity using micronucleus test and challenge assay. **Oral Oncology**, [s.l.], v. 44, n. 4, p.354-360, abr. 2008.

SAVORY J., WILLIS M. R., Trace-Metals – Essential nutrients or toxins, *Clinical Chemistry*, v. 38, p. 1565-1573. 1992.

SELINUS, Olle. Geologia médica. In: SILVA, C. R.; FIGUEIREDO, B. R.; CAPITANI, E.M. de; CUNHA, F.G (Eds.). Geologia médica no Brasil: efeitos dos materiais e fatores geológicos na saúde humana, animal e meio ambiente. CPRM. 220 p. Cap. 1, p. 1-5. Rio de Janeiro, 2006.

STICH, Hans. F; CURTIS, J. R; PARIDA, Bibhuti. B. Application of the micronucleous test to exfoliated cell of high cancer risk groups: tobacco chewers. **International Journal of Cancer**, v. 30, p 553-559. 1982.

STICH Hans. F, ROSIN Miriam P. Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells. **International Journal of Cancer**. 1983.

TAMBELLINI, Anamaria T. et al - Política Nacional de Saúde do Trabalhador, análises e perspectivas. Contribuição à Conferência Nacional de Saúde do Trabalhador- ABRASCO. Rio de Janeiro, 1985.

TEIXEIRA, M B S, OLIVEIRA, P M. Aplicação do metaprojeto no desenvolvimento de anéis com a utilização de gemas de baixo valor intrínseco. 2005.

THOMAS, Philip et al. Buccal micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, [s.l.], v. 4, n. 6, p.825-837, 7 maio 2009.

TOLBERT, Paige E.; SHY, Carl M.; ALLEN, James W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. **Mutation Research**, v. 271, p. 69-77. 1992.

VEIGA, Márcia A. M. S., **Determinação de Elementos Traço por AAS e ICP-MS Após Extração no Ponto Nuvem, Usando Dietil-Ditiofosfato Como agente Quelante**, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2000.

ZACARIAS, Cyro H. Avaliação da exposição de trabalhadores de casas-de farinha ao ácido cianídrico proveniente da mandioca, *Manihot esculenta*, Crantz, no Agreste Alagoano. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

WEGNER, Ralf. Lung function, biological monitoring, and biological effect monitoring of gemstone cutters exposed to beryls. **Occupational and Environmental Medicine**, [s.l.], v. 57, n. 2, p.133-139, 1 fev. 2000.

WILLIAMS, Phillip L.; JAMES, Robert C.; ROBERTS, Stephen M. Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications, 2ª ed. John Wiley & Sons, Inc., 2000.

## CAPÍTULO 2

### **Gem mining at the Jequitinhonha Valley (Brazil): source of genotoxicity and exposure to toxic elements**

Ana Paula Rufino Santos<sup>a</sup>, Lucas Zeferino Silva<sup>a</sup>, Bruna Moreira Freire<sup>b</sup>, Márcia Cristina da Silva Faria<sup>a</sup>, Bruno Lemos Batista<sup>b</sup>, Jairo Lisboa Rodrigues<sup>a\*</sup>

Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni, Minas Gerais, 39803-371, Brazil.

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo, 09210-170, Brazil.

\*[jairo.rodrigues@ufvjm.edu.br](mailto:jairo.rodrigues@ufvjm.edu.br)

#### **ABSTRACT**

The bioavailability of toxic metals is directly related to their potential to promote deleterious effects and broad occupational exposure. This study was carried out in the Taquaral de Minas District, located in the Jequitinhonha Valley, state of Minas Gerais. The valley is one of the richest and most gem-producing areas in Brazil. Five artisanal mines were sampled (Bode, Pirineu, Pinheira, Lajedo and Marmita). Several potentially toxic metals (Be, Zn, Mn, Ba Cd, Hg, U) were found in soils, dust and dust over the rocks and the soils. Samples from 22 individuals occupationally exposed and 17 unexposed persons, who formed the reference group, were analyzed for trace elements. Genotoxicity was evaluated by Micronucleus Test in buccal mucosa epithelial cells. The following changes were scored: micronuclei (MN) binucleate (BN) cells, and kariolytic (KL) cells. The results of the MN test showed significant increased frequencies in all alterations of exposed individuals compared to controls ( $p < 0.05$ , Student's t Test). The results of the MN test in the analysis of the changes and the comparison between the concentrations found in blood and urine presented significant results for  $P < 0.05$ . Urine analysis showed levels of Cr, Ni Ba, Pb and As in the blood higher than the ATSDR recommended levels. The higher the years of working, the higher the concentrations in the blood due to the chronic exposure. The results of the present study indicate an environmental contamination and potential risk to the health of those miners suggesting an intervention.

**Keywords:** Miners; environmental contamination; occupational exposure; genotoxicity; biomonitoring.

## 1. Introduction

In many regions of the country, the search for gems and other mineral rarities is a degrading activity in the health, living and environment of those who work on it, often being the only alternative of survival for millions of manual workers (SANTOS and PÊGO, 2015).

Among the diffuse regions in Brazil that exhibit this extensive occupational exposure, are the Jequitinhonha Valley, which is classified by the Mineral Resources Research Company (CPRM, 2003) as one of the most important gem-producing areas in the world. The region is known worldwide for producing an infinite number of gemstones, with important occurrences of tourmaline, beryl, tin (cassiterite), feldspar, lithium (amblygonite, spodumene and petalite), mica, niobium-tantalum and quartz. Localized in the cities of Virgem da Lapa, Rubelita, Coronel Murta, Itinga Medina and Pedra Azul (CPRM, 2003).

Mining processes generally release metals and semimetals into the environment, which are concentrated in rocks, sediments, water and soil, an important source of exposure (KLAASSEN, 2012). The higher the availability, the higher the toxic potential and the bioaccumulation of the substance in the organism (OGA, 2008). In this context, exposure to chemicals may cause toxic effects and changes in the health status of individuals living in or in contact with such environments (FERREIRA and WERMELINGER, 2013).

Colacioppo (2005) reported that in the Brazilian reality, the worker performing an activity may be exposed to an aggressive agent, having immediate effects such as accidents or occupational chronic diseases, reaching workers in the artisanal mines. The toxic effects from exposure to metals can be classified as acute (intoxication) and chronic as the development of carcinomas (REID et al., 1993).

The objective of occupational toxicology is to manage and understand the various chemical risks present in the work environment (Cassarett, Doull and Klassen 2001). Ferreira and Wermelinger (2013) argue that the human being is exposed to diverse chemical, physical and biological agents whose exposure arises from contact through the respiratory, dermal or ingestion routes. Klassen (2000) in turn describes that all metals and their compounds present toxicity depending on the degree, amount and time of exposure.

Therefore, human exposure to these diversified chemical substances favors the development of deleterious effects, ranging from damage to the ecosystem such as toxic



effects on health (neurotoxicity, carcinogenic, mutagenic effects) (FLORES and YAMAGUCHI, 2008). Mutagenic effects occur when an agent is able to cause sudden changes in genetic material, and this effect is persistent and permanent in its structure or content (DEARFIELD et al., 2002; OGA, 2008). In contrast, a compound that causes metabolic alteration in cells, culminating or not at death, presents cytotoxicity (BOGO, 2012). In this sense, the genotoxic agents only have the capacity to damage a DNA molecule, usually associated with situations of environmental pollution (MITCHELMORE E CHIPMAN, 1998).

In the localities where the extraction of gems occurs in mines, therefore, we end up structuring situations that are exemplified in the incisive impacts in the work and health situation of the workers. The aim of this research was to evaluate the occupational exposure of the population working in the artisanal mines, through environmental analyzes (soil, soildust and stonedust) and observation of toxicological parameters including analysis of blood and urine for the determination of possible pathogenic chemical agents, which allowed the evaluation of genotoxicity by means of micronucleus tests in cells of the buccal mucosa.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1 Study Area**

The district of Taquaral de Minas is located in the municipality of Itinga, southwest of the district, in the Jequitinhonha mesoregion, in the northeast of Minas Gerais. In geological terms, Taquaral de Minas is located at an area with abundance and variety of gems, in the Eastern Pegmatitic Province of Brazil (Fig. 1). This area has an estimated absolute population of 2.364 inhabitants as shown in the 2014 Epidemiological Map, which was consulted at the Family Health Station (PSF) in Taquaral de Minas.

The Eastern Pegmatitic Province of Brazil extends from northeast to east of Minas Gerais, especially along the valleys of the rivers Doce and Jequitinhonha, where their main rocky bodies appear. This district has an abundance of rare chemical elements such as lithium and boron in pegmatites that, through the changes generated by the geological processes, have become deposits with a large number of valuable minerals of land (PEDROSA, 2005).

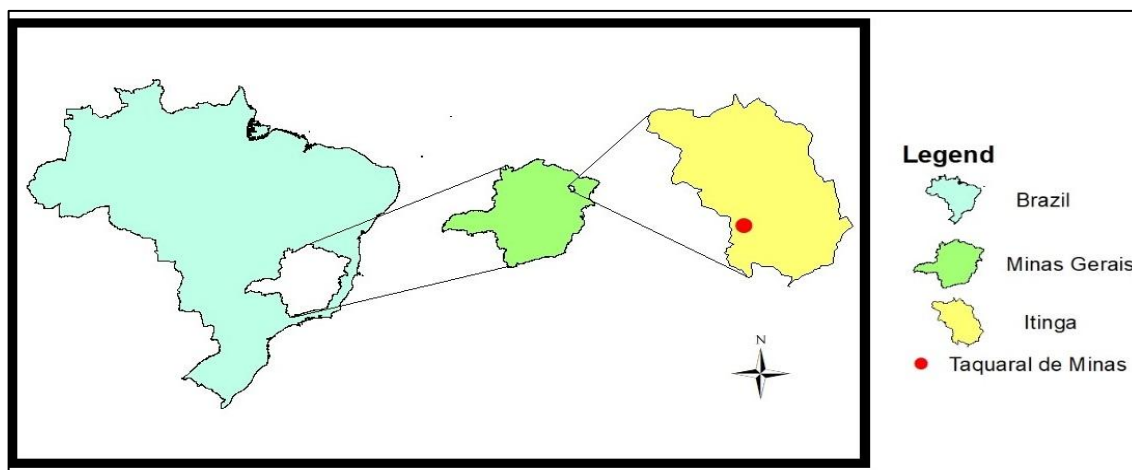


Fig. 1 - Representation of The District of Taquaral de Minas

## 2.2 Population Study

The study population consisted of 22 workers from areas of artisanal gem mining in the district of Taquaral de Minas, Itinga, Minas Gerais. The control group was composed of 17 individuals with no involvement in any occupational activity, including students, administrative staff and docents of the Institute of Science, Engineering and Technology (ICET) of the Federal University of the Valleys of Jequitinhonha and Mucuri (UFVJM).

The general characteristics of the populations studied are summarized in Table 1. Twenty-two individuals exposed to the artisanal mining activity and seventeen controls participated in the study, all of whom are male.

Table 1. Characteristics of the Study Populations (Mean  $\pm$  SD)

	Control Group	Occupationally Exposed Group
Number of subjects	17	22
Age (years) (Mean $\pm$ SD; range)	33.23 $\pm$ 7.54 (23 – 48)	53.68 $\pm$ 12.28 (26 – 77)
<b>Smoke habits</b>		
Nonsmokers. n (%)	16 (94.12%)	19 (86.36%)
Smokers. n (%)	1 (5.88%)	3 (13.64%)
<b>Alcoholic consumption</b>		
Positive. n (%)	11 (64.70%)	12 (54.55%)
Negative. n (%)	6 (35.30%)	10 (45.45%)

The existence of the mines in the Jequitinhonha Valley has a historical character, with importance in the creation and settlement of several cities. It happened in Taquaral de Minas, a settlement nucleus that emerged on the banks of the Jequitinhonha river due to the discovery and extraction of gems (Vieira, 2012). Among the mineral resources withdrawn in the 30 mines around Taquaral de Minas, gemstones of tourmalines are highlighted, (SANTOS e PÊGO 2015).

The lack of previous data on the condition of mining as an activity that allows an occupational exposure to those who toil daily reinforces the pioneering nature of the study, in which information or data form the basis for future programs or studies related to occupational theme.

### **2.3 Analytical Instrumentation**

All the trace elements were determined by an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS). The ICP-MS is a relatively new and effective technique for multi-element determinations, ideal for analysis of soil, water, biological samples (blood, urine, hair, fingernail). Therefore, a Perkin Elmer Nexion instrument was used with a Meinhard nebulizer and cyclonic spray chamber and continuous nebulization. The operating conditions were: i) nebulizer gas flow rates:  $0.95 \text{ l min}^{-1}$ ; auxiliary gas flow:  $1.2 \text{ l min}^{-1}$ ; ii) plasma gas flow:  $15 \text{ l min}^{-1}$ ; iii) lens voltage:  $7.25 \text{ V}$ ; iv) ICP RF Power:  $1200 \text{ W}$ ; v)  $\text{CeO/Ce} = 0.031$ .

### **2.4 Reagents**

Nitric acid was previously purified by sub-boiling distillation using a Kurner quartz distiller (Analysentechnik, Rosenheim, Germany). The type I water (resistivity  $18.2 \text{ M}\Omega\text{-cm}$ ) was obtained by a Thermo Scientific Barnstead Nanopure purification system. The solutions were prepared and all analysis were performed in the Laboratory of Analytical Instrumentation of the UFVJM-Campus Mucuri, a clean room class 1000. Quality control for the determination of metals was carried out via analysis of standard reference materials. The reference samples were analyzed before and after ten runs of ordinary water samples. There were no statistical differences between the concentration values obtained for the reference materials and the "target-values" for 95% confidence intervals using the T-test.

## **2.5 Collection of Soil, Soildust and Stonedust**

The soil, soildust and stonedust samples of the rocks inside the underground mines were collected in October 2016 at five specific mining sites namely Bode, Pirineu, Pinheira, Lajedo and Marmita. The determination of metals in dust samples superimposed on the underground extraction environment followed the guidelines proposed by Ono et al. (2011). This stage consisted of scraping a brush of bristles of nylon (18 cm long), in the depths of 0-10 cm, to remove the soildust and stonedust. Soil sampling was performed by composite sampling using a manual excavation survey at a depth of 0 to 20 cm. The samples were homogenized and stored in a soil collecting bag (NASCO brand). Three samples of each artisanal mining were collected at specific points: two of the dust accumulated in the soil and in the rock wall. The plastic bags were labeled and sealed at the end of collection.

## **2.6 Preparation and analysis of Environmental Samples**

The samples were transported to the UFVJM, Campus Mucuri, and were air dried, macerated (grade and pistil). A 150  $\mu\text{m}$  nylon sieve was used for sample sieving. Acid extraction was done using the US EPA 3051 A method of the US Environmental Protection Agency (USEPA, 2007), in a microwave assisted sample digestion system MARS-6<sup>®</sup> (910900, CEM, U.SA). For this procedure, 0.5 g of solid material were added in a Teflon flask with 10 ml of previously purified  $\text{HNO}_3$  with sub-boiling distillation using a Kurner quartz distiller (Analysentechnik, Rosenheim, Germany). After digested, the samples were transferred to a Falcon tube completing its maximum capacity, 15 ml with Type I water (ultrapure resistivity 18.2  $\text{M}\Omega\text{-cm}$ ) obtained in Thermo Scientific Barnstead Nanopure purification system.

In the analysis stage; 0.1 ml of the supernatant was diluted 1000-fold with 2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  for multielement determination by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry NexIon 300D PerkinElmer, Norwalk, USA.

## **2.7 Collection, preparation and analysis of oral exfoliative cells**

The individual samples were collected for evaluation of human exposure after approval by the Research Ethics Committee (CEP) of the Federal University of the

Jequitinhonha and Mucuri Valleys, protocol number 1,691,988 and with the signature of the Term of Free and Informed Consent by research volunteers.

The collection of buccal cells followed the protocol proposed by Thomas et al. (2009) scraping the buccal mucosa with the help of a wooden tongue-tossing model. The material was transferred to falcon tubes containing 10 ml of buccal buffer (Tris-Sigma Aldrich, USA; EDTA-Sigma Aldrich, USA; and Sodium Chloride-Sigma Aldrich, USA) on a vortex-type stirrer - Thermo Scientific, M37615, China.

Cells were placed in a Centrifuge model Centec 6000R, Brazil and centrifuged for 10 minutes at 581 g at room temperature, with the process been repeated three times. About 120-150 ml of the cell suspension were transferred to the air-dried slides fixed in Carnoy solution containing ethanol - Neon, Brazil and glacial acetic acid - Isofar, Brazil (3: 1). In the staining step, the slides were dipped for one minute each into flasks containing 50% (vol / vol) and 20% (vol / vol) ethanol and washed for two minutes in a vessel containing Milli-Q water. After that, they were placed in a vial of 5 M hydrochloric acid (Isofar, Brazil) for 30 minutes and then rinsed in tap water for 3 minutes. Schiff's reagent - Sigma Alcrich, USA was added for core staining (approximately one hour, in an environment without incident of light.). For the counter staining of the cytoplasm, the Fast-Green - Sigma Aldrich dye, USA, has been used between 20-30 seconds. The analysis occurred at magnification of 1000 and 400 times under an optical microscope. The scoring criteria followed those described by Thomas et al. (2009) in a minimum of 2.000 differentiated for micronucleus and 1.000 other changes (shoots, binucleate, karyiorrex, kariolytic, picnotic).

## **2.8 Collection, preparation and analysis of biological specimens (blood and urine)**

The venous blood samples (4 ml) of the volunteers were collected by a nurse in a private laboratory. Prior the venous puncture, the skin was cleaned with 70% alcohol. The blood was collected in vacuum tubes for trace elements (BD, Vacutainer®) containing anticoagulant (EDTA). They were transported at -20 °C and stored at -80 ° C until analysis. The analysis of urine and blood were carried out as described elsewhere (BATISTA et al., 2009a and 2009b). All samples were prepared using a diluent containing distilled HNO<sub>3</sub> 0.3 % v v<sup>-1</sup> and Triton® X-100 0.002 % m v<sup>-1</sup>. For analysis, the samples of blood and urine were diluted 1+49 and 1+19, respectively. All analytical calibrations were from 1 to 20 µg L<sup>-1</sup>

except for Hg, which the calibration ranged from 100 to 1000 ng L<sup>-1</sup>. The reference materials of trace elements in whole blood Seronorm L-2 (Sero, Norway) and in freeze-dried urine NIST 2670a (National Institute of Standard and Technology, USA) were analyzed for quality assurance.

## **2.9 Statistical analysis**

The concentrations of chemical elements in the environmental samples were compared with the Guiding Values for Soil and Groundwater (Quality Reference Value – QRV and Prevention Value – PV) presented in the most recent publication in the Official Gazette of the State of São Paulo, the Decision of the Board of Directors 045/2014 of CETESB, National Environmental Council (CONAMA), the Normative Deliberation of COPAM (Specific Council of Environmental Policy) 166/2011, specific to the state of Minas Gerais, in addition to the ATSDR International Resolution (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) for the year 2002.

The descriptive statistics (mean and standard deviation) were used for soil and dust / soil and rock samples. The Microsoft Excel<sup>®</sup> (2016) was used. For the analyzes obtained by the micronucleus assay, descriptive data regarding age, results expressed as mean and standard deviation, habits such as tobacco use and alcohol consumption were presented in percentages.

In the comparison of the frequencies of the changes in the exposed individuals and controls and in the concentrations of chemical elements, the test T paired was used,  $P < 0.05$  for significant cases. Blood, and urine results were expressed as minimum and maximum intervals, mean, median and 10%, 25%, 75% and 90% percentiles. All statistical analyzes were enhanced using the GraphPad Prism V7.4 program.

## **3. Results and Discussions**

### **3.1 Concentration of chemical elements in environmental samples**

Distributed throughout nature, some metals are considered essential micronutrients to plants. Other elements occur in turn, in low values in soils depending on the composition of the source material, soil development and formation processes, as well as the environmental characteristics of the area (CAIRES, 2009).

Although they are associated with toxic capacity, a number of metals constitute accessory elements in the constitution of rocks and have a natural occurrence in the environment such as Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, Mo and Co beneficial to plants, while the Pb, Cd, Hg are potentially toxic without any essentiality to the soil and the biological function of the organism (BIONDI et al., 2011). Such elements, in high concentrations, can cause abortions, neurological malformation and cancers - skin, pancreas and lung (DIXON, 1996), thus compromising the health of individuals and ecosystemic quality.

In this study, of the analysis of the elements Li, Be, V, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn As, Sr, Cd, Ba, Pb, Bi, U, Hg were carried out in fifteen samples of soil and dust in the respective artisanal mines visited: Bode, Pirineu, Pinheira, Lajedo and Marmita. The results were the means of reading for triplicates of each sample. Tables 2 and 3 present the values ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) of the metals concentration in the soil samples, soil / rock dust and dust, in addition to establishing a comparison with established values by CETESB (2014), COPAM (2011) and ATSDR (2002) respectively. We will discuss in this paper only the elements that have obtained significant changes: Ba, Be Cd, Hg, Zn, U, Mn.

Table 2. Concentration of metals (mg kg<sup>-1</sup>) in the analyzed soil samples and comparison with reference values (Mean ± SD)

Element	Mine	Soil	Soildust	Stonedust	COPAM		CETESB	
					QRV	PV	QRV	PV
Ba	Bode	32.22 ± 0.38	<LOD*	0.16 ± 0.13				
	Pirineu	68.28 ± 0.53	<LOD*	<LOD*				
	Pinheira	27.32 ± 0.20	<LOD*	<LOD*	93.00	150.00	75.00	120.00
	Lajedo	45.40 ± 0.34	1.49 ± 0.03	1.44 ± 0.03				
	Marmita	104.18 ± 0.88	5.30 ± 0.04	11.70 ± 0.03				
Cd	Bode	0.33 ± 0.00	0.42 ± 0.01	0.69 ± 0.01				
	Pirineu	0.53 ± 0.01	0.85 ± 0.03	0.72 ± 0.01				
	Pinheira	0.33 ± 0.00	0.81 ± 0.02	0.50 ± 0.01	0.40	1.30	0.50	1.30
	Lajedo	0.45 ± 0.01	0.73 ± 0.01	0.52 ± 0.01				
	Marmita	0.46 ± 0.01	0.67 ± 0.02	0.97 ± 0.02				
Hg	Bode	133.81 ± 18.77	1576.67 ± 111.87	840.79 ± 37.57				
	Pirineu	180.15 ± 40.67	339.04 ± 22.46	185.16 ± 26.24				
	Pinheira	92.32 ± 28.94	916.18 ± 64.66	401.63 ± 28.52	0.05	0.50	0.05	0.50
	Lajedo	<LOD*	<LOD*	<LOD*				
	Marmita	45.98 ± 12.76	<LOD*	<LOD*				
Zn	Bode	61.50 ± 0.56	69.75 ± 0.92	4.79 ± 0.32				
	Pirineu	78.25 ± 0.67	104.54 ± 1.01	94.16 ± 0.89				
	Pinheira	22.21 ± 0.29	82.36 ± 1.13	43.16 ± 0.59	46.50	300.00	60.00	86.00
	Lajedo	23.24 ± 0.28	132.77 ± 1.28	33.98 ± 0.52				
	Marmita	61.63 ± 0.83	36.50 ± 0.29	45.03 ± 0.38				

\*QRV/PV (Quality Reference Value/Prevention Value) COPAM and CETESB regulations.

When comparing the values of the concentrations of the elements obtained in the environmental analyzes according to the Resolution of COPAM 166/2011 and data of the Decision of Directors 045/2014 of CETESB, the elements Ba, Cd, Hg and Zn present values



of Quality Reference above which is advocated. According to the 2002 ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), those that exceed the established limit are Be, Mn, Zn and U, the other elements are within what is established.

From the analyzes carried out, it can be verified in Table 1 that the soil collected in the Marmita mine presented Ba concentration ( $104.18 \text{ mg kg}^{-1}$ ), a reference quality value (RQV) greater than  $75 \text{ mg kg}^{-1}$  -  $93 \text{ mg kg}^{-1}$  and as recommended by CETESB and COPAM respectively.

According to CETESB (2014) and COPAM (2011) the soil samples in the Pirineu, Lajedo and Marmita garimpos and the soildust / dust in all the analyzed and dust / stonedust in the Bode, Pirineu, Lajedo and the Cd QRV above the permitted value ( $0.40 \text{ mg kg}^{-1}$  and  $0.50 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Cd pollution may be due to several factors such as weathering, soil erosion, landfill leaks and mining residues, because it is chemically similar to Zn, both are usually found together in geochemical processes (AZEVEDO et al., 2003). which may explain a higher concentration of these in the prospected mines.

As for Hg, the element concentration values exceeded QRV ( $0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and PV ( $0.50 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (prevention value) of COPAM (2011) and CETESB (2014) in large part of the mines visited, with the exception of Lajedo and soil dust in the Marmita, which presented a lower value than the ICP-MS (<LOD) Detection Limit. Hg enters the environmental compartment in different ways, either due to its use or incorrect waste management (Au mining) (MANAHAN, 1999).

In relation to Zn, according to the value of the QRV of both COPAM (2011) -  $46.5 \text{ mg kg}^{-1}$  - and CETESB (2014) and ATSDR -  $60 \text{ mg kg}^{-1}$  - showed high soil concentrations in the Bode, Pirineu and Kettle; dust / soildust in Bode, Pinheira, Lajedo and Pirineu and the dust / stonedust in Pirineu are above value. In relation to PV ( $80 \text{ mg kg}^{-1}$ ), soildust (Pirineu and Lajedo) and stonedust (Pirineu) present concentrations at higher levels. Amorim (2012) argues that although zinc is an abundant and non-toxic element, processes such as mining can bring environmental concerns and liabilities.

Table 3. Concentration of metals (mg kg<sup>-1</sup>) in the analyzed soil samples and comparison with reference values (Mean ± SD)

Element	Mine	Soil	Soildust	Stonedust	ATSDR QRV
Be	Bode	2.74 ± 0.03	11.33 ± 0.47	20.73 ± 0.23	15.00
	Pirineu	41.32 ± 0.42	71.22 ± 1.11	28.62 ± 0.62	
	Pinheira	3.04 ± 0.05	26.94 ± 0.29	9.31 ± 0.11	
	Lajedo	5.33 ± 0.10	40.77 ± 0.92	38.37 ± 0.31	
	Marmita	4.76 ± 0.05	17.59 ± 0.52	34.62 ± 0.29	
Mn	Bode	161.00 ± 0.89	106.77 ± 1.29	504.95 ± 7.13	330
	Pirineu	957.99 ± 5.35	1256.87 ± 12.94	470.15 ± 4.72	
	Pinheira	539.31 ± 4.79	761.78 ± 11.53	395.56 ± 4.09	
	Lajedo	360.63 ± 2.25	185.09 ± 2.91	178.79 ± 2.54	
	Marmita	413.29 ± 3.12	707.50 ± 5.98	1600.49 ± 9.37	
U	Bode	19.33 ± 0.21	3.67 ± 0.01	4.90 ± 0.02	3
	Pirineu	58.09 ± 0.62	32.04 ± 0.34	4.61 ± 0.01	
	Pinheira	24.82 ± 0.31	12.08 ± 0.09	4.82 ± 0.01	
	Lajedo	19.88 ± 0.32	4.43 ± 0.02	4.31 ± 0.01	
	Marmita	102.00 ± 1.06	9.00 ± 0.03	13.56 ± 0.08	
Zn	Bode	61.50 ± 0.56	69.75 ± 0.92	4.79 ± 0.32	60
	Pirineu	78.25 ± 0.67	104.54 ± 1.01	94.16 ± 0.89	
	Pinheira	22.21 ± 0.29	82.36 ± 1.13	43.16 ± 0.59	
	Lajedo	23.24 ± 0.28	132.77 ± 1.28	33.98 ± 0.52	
	Marmita	61.63 ± 0.83	36.50 ± 0.29	45.03 ± 0.38	

\*QRV (Quality Reference Value) ATSDR regulation.

The elements Be, Mn and U do not have COPAM or CETESB reference values. Regarding the element beryllium, the values of dust / soildust soil in Pirineu, Pinheira, Lajedo and Marmita mines; of the soildust / stonedust in the Bode, Pirineu, Lajedo, Marmita and the soil in the Pyrenees presented values above 15 mg kg<sup>-1</sup> as established by ATSDR (2002).

The values of the element Mn, are in a limit higher than that recommended by ATSDR (2002) - 330 mg kg<sup>-1</sup> - in Pirineu, Pinheira, Lajedo and Marmita mines (in the soil samples); Pirineu, Pinheira and Marmita (in the dust / soildust) and in the Bode, Pirineu, Pinheira and Marmita (in dust / stonedust). Biondi (2010) describes that the knowledge of the natural Mn contents in the soils is relevant, since they participate as main constituents of rocks besides being a plant micronutrient Caires (2009) and Júnior et al. (2016), in contrast, found values of manganese in soils (345.76 mg kg<sup>-1</sup> and 484.05 mg kg<sup>-1</sup>, respectively), closer to those referring to the soil analyzes obtained in the present study.

Uranium in all soil and dust / dust samples presented values higher than 3 mg kg according to ATSDR (2002), in the five mines analyzed (Bode, Pirineu, Pinheira, Lajedo and

Marmita). The U presents as a natural component of soil and rocks, and can be eliminated in the air by mining processes. The main route of exposure to the element is oral, followed by inhalation (ATSDR, 2002).

In addition to these elements, in the present study, aluminum values ranged from 4,336.10 mg kg<sup>-1</sup> to 13,660.41 mg kg<sup>-1</sup>, with an average value of 8,127.61 mg kg<sup>-1</sup>, which was lower than the minimum concentration found by Silva (2011) and Viglio (2010) of 17,770 mg kg<sup>-1</sup> in the eight basins of the rivers Velhas, Paracatu, Abaeté, Urucuia, Carinhanha, Jequitaí, Verde Grande and São Francisco analyzed in the state of Minas Gerais.

Silva (2011) also describes that aluminum is present in a series of minerals such as alunite, andalusite, beryl, biotite, kyanite, cordierite, spodumene, staurolite, muscovite, feldspar and sillimanite. In this way, natural contamination can be potentiated during exposure to these mineralized bodies. In this case, when exposure to the element occurs, some factors should be analyzed, including dose (quantity), duration (how long) and form of contact, besides age, sex, diet, family characteristics, lifestyle and health status. In Brazil, there are still no reference values of health or environmental organs for Al in soils that could be harmful to environmental health.

### **3.2 Determination of genotoxic changes in exposed individuals and controls**

In humans, the Micronucleus Test (MN) can be easily assessed in exfoliated epithelial cells of either the oral or nasal epithelium in order to measure genetic / genomic damage in vivo in situations where the subject is occupationally / accidentally exposed or in the assessment of lifestyles, cancer detection or neurodegenerative diseases (FENECH, 2011; HOLLAND et al., 2008). The efficacy of the MN test on oral epithelial cells has been recognized by several studies (CAVALLO, 2005; SARAN et al. 2008) for the detection of genotoxic effects or exposure to mutagens.

Nuclear abnormalities or additional biomarkers such as binucleated (BN), karyorrhexis (KR), pyknotic nuclei (PN), karyolysis (KL) and condensed chromatin (CC) and micronucleus can be identified by means of MN test during cell differentiation, which indicates damage to DNA, cytotoxicity or cell death when observed at high frequencies. (STICH and ROSIN, 1984; THOMAS et al. 2009; TORRES-BUGARÍN et al. 2014). In Fig. 2, it shows the cellular alterations found in the studied groups and table 4 shows the distribution of changes in controls de exposed.

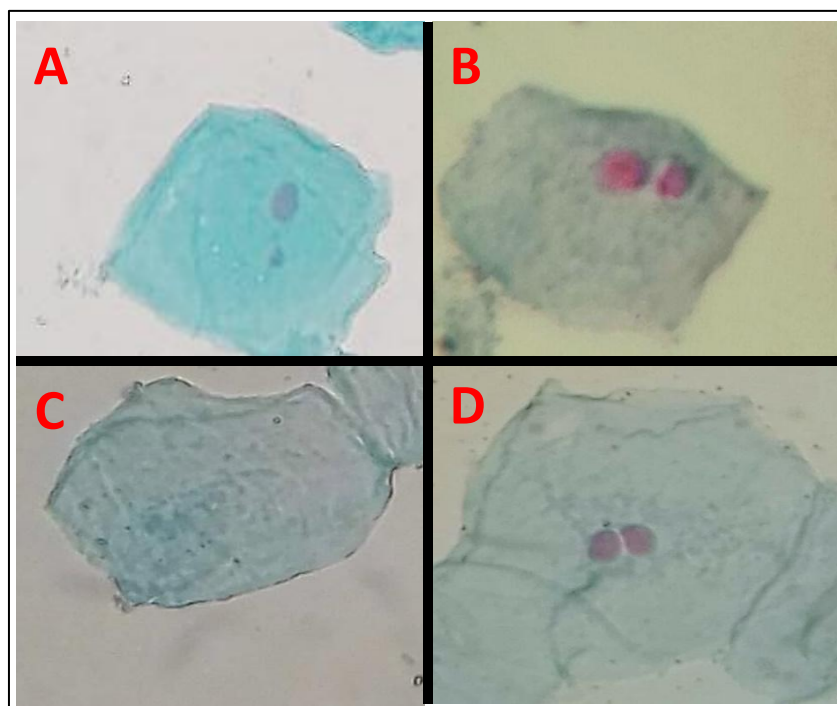


Fig. 2 – The changes observed in exposed individuals and controls. **A:** Micronucleus cell (MN); **B:** Micronucleus cell (MN); **C:** Karyolysis cell (KL); **D:** Binucleated cell (BN).

Table 4. Frequency of MN, BN and KL in the control and occupationally exposed groups (Mean  $\pm$  SD, Range.)

Group	n	Micronucleus (MN)	Binucleated (BN)	Karyolysis (KL)
Control	17	0.35 $\pm$ 0.61 (0 – 2)	4.18 $\pm$ 1.70 (2 – 8)	3.47 $\pm$ 1.91 (1 – 9)
Miners	22	2.50 $\pm$ 2.65 (0 – 9)	12.86 $\pm$ 7.27 (0 – 26)	17.91 $\pm$ 12.86 (0 – 59)

the genotoxicity biomarkers showed significant differences ( $P < 0.05$ ) between the populations in the frequency of MN, BN and KL, with higher values in those exposed when compared to the controls in Table 4 and Fig. 3, results similar to those found by Arul et al. (2017) and Coelho et al. (2011) whose objective was to determine the adverse health effects of populations living in the vicinity of the metals exposed to the metals (As and Cd) from the exploration. In Table 5 shows the influences between the habits of the studied groups and the frequency of nuclear abnormalities. Castañeda-Yslas et al. (2016), with the objective of evaluating the genotoxic effect on the buccal mucosa by the use of pesticides in farmers and their children, concluded a high number of MN and nuclear abnormalities (NA) may indicate future damages to health. Table 5 shows the influences between the habits of the studied groups and the frequency of nuclear abnormalities.

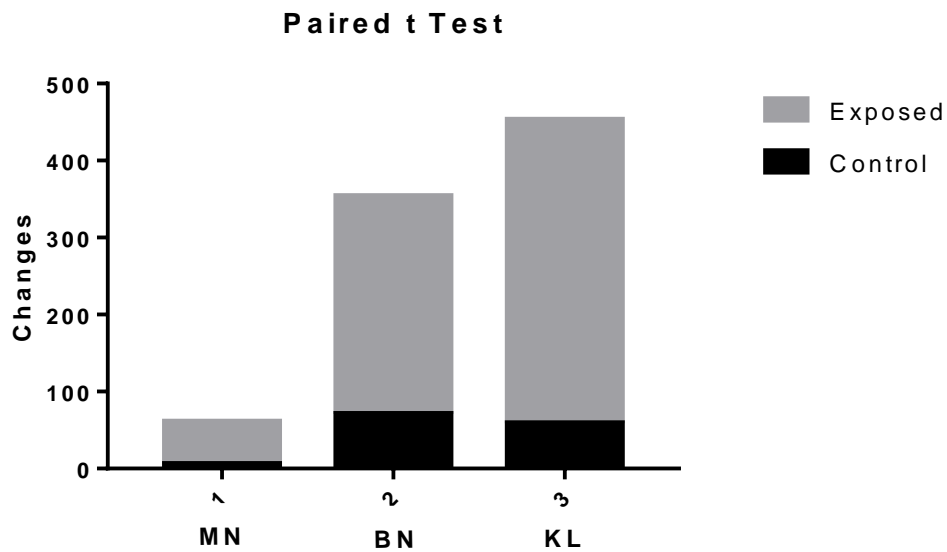


Fig. 3 - Distribution of nuclear abnormalities of the control and exposed groups.  $P < 0.05$  according to samples t-test paired.

Table 5. Influence of age, alcohol consumption and smoking one the genotoxicity biomarkers studied.

Alteration frequencies between the groups	P value (t test)
Age Control Group x Age Exposed	0.1072
MN Control Group x MN Exposed	0.0071*
BN Control Group x BN Exposed	0.0004*
KL Control Group x KL Exposed	0.0003*
Alcoholic Consumption:	
MN Control Group x MN Exposed	0.0040*
BN Control Group x BN Exposed	0.0001*
KL Control Group x KL Exposed	0.0092*
Non-alcoholic Consumption:	
MN Control Group x MN Exposed	0.1184
BN Control Group x BN Exposed	0.0524
KL Control Group x KL Exposed	0.0559
Smokers	
MN Control Group x MN Exposed	0.3019
BN Control Group x BN Exposed	0.3063
KL Control Group x KL Exposed	0.2438
Nonsmokers	
MN Control Group x MN Exposed	0.0010*
BN Control Group x BN Exposed	0.0001*
KL Control Group x KL Exposed	0.0001*

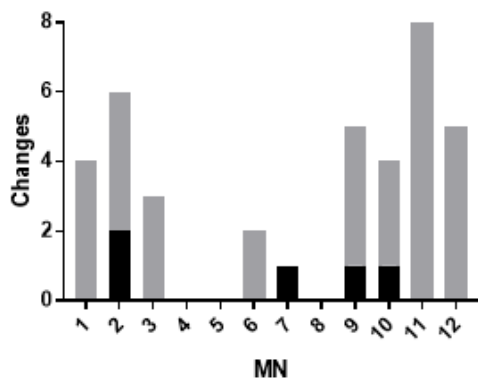
Asterisk indicates significantly different from control,  $P < 0.05$ .

The expressive number of changes found in occupationally exposed individuals may indicate genotoxic damage induced by chronic exposure and possible metallic

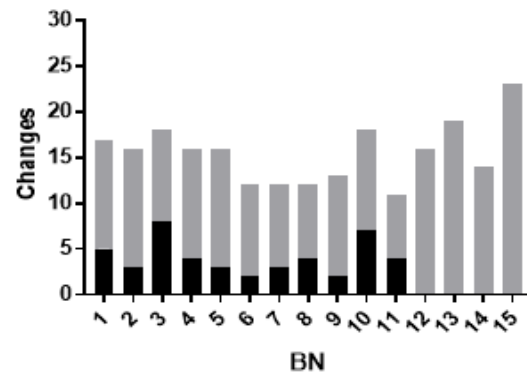
contamination. Baimain et al. (2013), reinforces that genetic alterations are important in the development of cancer since most cancer cells present genomic instability. Such instability may be induced by inherited mutations in genes or those acquired in somatic cells in the development of a tumor.

Bolognesi et al. (2013) indicates that the presence of MN and BN in occupationally exposed groups reflects on genotoxic damage and cell death, PN, CC, KR, KL cells in turn originate after the occurrence of cytotoxic damage. The formation of NA by exposure to chemicals has been associated with the occurrence of chronic and degenerative diseases. BN cells for example may indicate failure in the cytokinesis process, Mn chromosomal instability or DNA damage (Deoxyribonucleic acid) while the other changes: CC, KR, PN, KL are aimed at cell death.

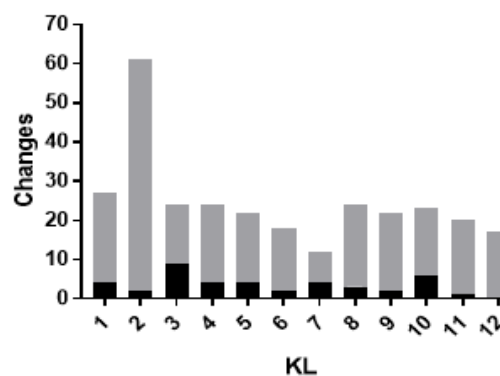
This study showed significant differences ( $P < 0,05$ ) related to alcohol consumption between controls and exposed to MN, BN and KL cells, (Fig. 4). The absence of alcohol consumption in turn does not influence or interfere with the frequency of changes.



(a)



(b)



(c)

Fig. 4 - Influence of alcohol consumption on the distribution in the Control (black) and Exposed Groups (gray).  $P < 0.05$  according to samples t- test paired. (a) Micronucleus (MN), (b) Binucleated (BN) and (c) Karyolysis (KL).

By the analysis of Figure 4, we observed the differences between the frequency of changes in the studied groups. The KL cells of exposed individuals presented increased frequency when compared to BN and MN (Fig 2). In the controls, the increase was in BN, followed by KL and MN respectively.

In the results of the group on alcohol consumption, approximately 66.67% - eight exposed individuals - presented MN, the controls in counterpart 33.33% - four individuals. As for BN, the distribution occurred more regularly when compared to the previous case. Approximately 73.33% - eleven individuals - of the control group presented such an alteration, but the frequency in the exposed group was increased, occurring in 100% of the cases, a fact also observed in KL, whose values were similar.

The alcohol is considered an important chemical agent in the development of genotoxic damage of the oral mucosa, even considering the high rate of cell renewal, changes can be observed in exfoliative cells of the mouth of individuals who consume it. (OGDEN, WIGHT and RICE, 2007). Analyzes such as Ghose and Parida (1995) and Stich (1988) affirmed a positive relationship between the increased frequency of MNs in individuals who consumed both alcohol and tobacco.

As observed values of the changes found for controls and exposed smokers, the established relationship was not significant, since only one individual in the control group was smoker and three in the exposed group. A similar result was found by Bonassi et al. (2003), where the frequency of micronuclei in smokers presented no difference when compared to non-smokers, who presented significant results. The same author mentions that a comparative study of studies conducted in individuals exposed to genotoxins and their controls in Medline in relation to smoking found thirty-three publications (89.2%) of those evaluated in which no association was found between MN and smoking habits (CRUZ et al., 1994). Motgi (2014), on the other hand, found differences between individuals with smoking compared to controls, which can trigger cytotoxic and genotoxic damages.

Due to the similarity with the analyzed object, several works offer theoretical subsidies to the investigation, among them stand out biomonitoring studies. Wegner et al. (2000), which aimed to ascertain the degree of occupational exposure to the beryllium chemical element in miners of marine water and emerald extraction areas in Germany. Cheyins et.al. (2014), in turn, sought to investigate the level of human and environmental exposure to cobalt in Africa through analyzes of dust, contaminated soil and urine. Coelho (2011) evaluated the adverse health effects of metal contamination through biomonitoring of biological specimens and the Micronucleus Test in Portugal. Joca (2009) evaluated the genotoxicity in workers exposed to silica in Brazil. Other studies such as Molina-Villalba et al. (2015), Paruchuri et al. (2010) and Steckling et al. (2011) presented results that related occupational exposure in mining areas.

### **3.3 Determination of creatinine**

Creatinine adjustment is routinely used to reduce factors that are not directly related to metal exposure, such as concentration and volume of urine (HINWOOD et al., 2002). The urine sample results were adjusted and plotted as micrograms of metal per gram of creatinine.

### **3.4 Determination of the concentration of Metals in blood and urine**

To our knowledge, this study is the first to analyze the possible occupational exposition by bioindicators (urine and blood) existing in the individuals who work in the Jequitinhonha Valley gemstones exploration in Minas Gerais (MG).

The general characteristics of the study are summarized in Table 3. Twenty metals were quantified in blood and urine (Li, Be, Al, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Cd, Cs, Ba, Hg, Pb and U) of the exposed population (22) and control individuals (17). Tables 6 and 7 show the values of the concentrations found, which are described as minimum and maximum, mean, median and 10%, 25%, 75% and 90% percentiles for urine and blood of the exposed group and control group.

The elimination of trace metals occurs through the kidneys and the gastrointestinal tract, which is slow to depend on the element. The period of time for which



half of the initial bioaccumulated amount is excreted varies widely, Pb and Cd, for example, take from 10 to 12 years, the four days As and 60 days for Hg. Blood and urine therefore generally reflect recent exposures including days and weeks, other matrices such as nails may reflect exposures for months. (DORNE et al., 2011). Hall and Guyton (2011) show that urine functions as a mechanism in the human body to excrete soluble wastes, excess water and a variety of toxic substances and metals. Although the study's miners exposure is a chronic condition and at the same time recurrent by dedication to daily activity, analysis of blood and urine samples are matched to suit the situation.

Table 6. Urine concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) of the control and exposed groups in range, mean, median and percentiles 10%, 25%, 75% and 90%

Element	Minimum		Maximum		Mean		Median		Percentile							
									10%		25%		75%		90%	
	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed
Li	2.37	3.88	12.33	165.26	7.46	30.92	7.82	20.70	3.82	7.70	5.19	14.87	9.70	32.75	10.97	53.83
Be	0.04	0.09	0.30	0.61	0.13	0.25	0.12	0.25	0.06	0.15	0.09	0.18	0.16	0.29	0.23	0.34
Al	<LOD*	<LOD*	28.50	115.77	6.68	33.44	3.92	29.42	<LOD*	<LOD*	<LOD*	14.45	10.99	39.00	14.20	81.76
Ca	31.406,32	11.323,17	303.139,62	26.6427,46	130.072,70	91879,27	120.290,45	92284,76	35.240,12	34688,51	72.249,62	49567,68	195.966,41	127851,51	231.884,04	143940,68
Cr	<LOD*	0.15	0.62	0.86	0.14	0.38	0.12	0.38	<LOD*	0.20	0.05	0.24	0.14	0.46	0.27	0.51
Mn	<LOD*	0.19	0.24	4.00	0.03	0.72	<LOD*	0.49	<LOD*	0.22	<LOD*	0.33	0.03	0.67	0.10	1.41
Fe	<LOD*	7.87	33.63	58.46	13.04	19.65	11.27	15.25	5.73	8.91	8.82	11.86	14.04	22.42	24.12	29.13
Co	0.19	0.23	1.61	1.03	0.47	0.64	0.41	0.65	0.20	0.37	0.27	0.45	0.48	0.86	0.74	0.99
Ni	0.27	0.66	4.90	8.55	2.06	3.28	1.84	2.91	0.49	1.00	1.26	2.27	3.10	4.36	3.67	5.07
Cu	15.51	32.69	46.44	88.65	31.14	59.80	33.05	58.64	20.14	43.69	25.62	48.01	36.14	67.02	41.54	80.22
Zn	148.39	75.06	926.08	1357.90	499.20	523.60	443.87	443.90	230.10	124.33	335.97	217.20	647.77	744.72	822.18	940.57
As	2.11	5.14	49.50	39.02	13.31	20.44	11.13	20.67	5.83	7.37	6.17	15.84	17.22	22.79	20.68	32.32
Se	10.99	5.98	94.18	37.52	31.31	19.72	26.49	19.45	15.24	8.26	17.30	11.21	33.01	26.28	54.36	30.94
Sr	64.22	35.63	395.94	563.73	192.62	200.04	161.46	197.39	70.74	74.66	132.37	120.32	220.04	235.82	366.96	304.14
Cd	<LOD*	<LOD*	0.19	0.43	0.06	0.18	0.05	0.14	0.01	0.02	0.04	0.09	0.08	0.29	0.12	0.37
Cs	6.58	3.83	38.20	39.55	22.73	22.27	23.71	20.56	14.80	10.98	16.84	15.56	27.39	29.12	33.44	35.23
Ba	0.21	0.39	18.81	30.37	4.73	6.49	3.31	4.28	1.84	0.80	2.21	1.59	5.77	9.87	9.15	12.22
Hg	0.45	0.22	2.83	11.50	1.33	3.74	1.12	2.47	0.56	1.11	0.91	1.48	1.70	6.33	2.39	7.33
Pb	<LOD*	<LOD*	1.98	13.88	0.40	2.79	0.18	1.86	<LOD*	<LOD*	<LOD*	0.19	0.65	4.57	1.09	5.97
U	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*

\* LOD indicates values below the detection limit.

Table 7. Blood concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) of the control and exposed groups in range, mean, median and percentiles 10%, 25%, 75% and 90%

Element	Minimum		Maximum		Mean		Median		Percentile							
									10%		25%		75%		90%	
	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed	Control	Exposed
Li	0.02	0.28	0.61	3.67	0.34	0.77	0.36	0.58	0.17	0.33	0.21	0.44	0.47	0.72	0.56	0.89
Be	<LOD*	<LOD*	0.62	0.45	0.18	0.17	0.13	0.11	0.05	<LOD*	0.09	0.01	0.18	0.30	0.41	0.37
Al	<LOD*	<LOD*	123.43	23.34	7.42	3.66	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	3.76	1.07	14.44
Ca	47,545.59	45360.98	81,846.64	62664.78	55,508.42	54522.24	53,028.06	55280.59	50,464.84	48129.52	51,197.95	52137.47	55,703.05	56925.44	63,491.59	58538.90
Cr	<LOD*	<LOD*	10.73	3.58	0.77	0.28	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	0.25	0.03	0.90	0.59
Mn	6.34	8.73	18.30	17.78	10.59	12.85	10.56	13.16	6.75	8.90	9.12	10.08	11.50	14.60	13.33	16.90
Fe	507058.49	461817.73	859,988.76	721983.16	580,573.83	587174.01	559,489.16	578055.21	533,547.60	546741.57	544,316.16	556251.12	585,012.80	613535.91	607,851.48	665096.52
Co	0.25	0.30	0.59	0.68	0.36	0.44	0.34	0.39	0.30	0.33	0.32	0.35	0.43	0.49	0.46	0.64
Ni	<LOD*	<LOD*	32.16	281.94	3.34	15.27	<LOD*	0.04	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	1.17	5.49	9.06	10.25
Cu	639.90	833.98	2,512.27	1403.48	1,109.77	1062.64	983.98	1046.61	841.32	894.72	919.46	973.90	1,029.12	1136.98	1,634.38	1215.32
Zn	5,935.96	5377.24	10,897.07	8640.76	7,213.15	7128.18	7,072.17	6973.87	6,095.39	6105.91	6,175.54	6478.32	7,704.23	7942.23	8,285.53	8395.99
As	1.26	0.68	9.86	2.83	4.18	1.45	2.75	1.39	1.56	0.98	1.96	1.18	4.81	1.71	8.76	1.87
Se	53.30	37.98	93.70	65.80	72.82	53.79	70.86	54.44	58.71	44.87	66.53	47.93	79.10	58.17	89.32	63.23
Sr	4.80	6.35	13.84	19.93	7.83	11.18	7.33	10.69	5.95	8.45	6.34	9.10	9.48	12.63	9.89	14.61
Cd	<LOD*	<LOD*	0.52	0.38	0.12	0.14	0.08	0.13	0.03	0.05	0.04	0.08	0.14	0.20	0.29	0.23
Cs	7.63	4.00	18.12	11.64	13.62	7.46	14.36	7.22	8.77	4.88	11.21	6.05	16.42	8.84	17.43	10.38
Ba	0.13	0.27	2.73	6.50	1.06	1.46	0.79	0.91	0.41	0.49	0.61	0.60	1.18	1.78	2.67	2.78
Hg	0.29	0.22	3.32	4.09	0.96	0.87	0.64	0.64	0.32	0.35	0.39	0.40	1.39	1.01	1.73	1.11
Pb	7.04	18.60	41.76	204.26	17.02	74.26	14.59	60.11	8.03	29.74	10.15	37.78	21.66	99.27	26.08	126.80
U	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*	<LOD*

\* LOD indicates values below the detection limit.

When comparing the urine results presented in the exposed group in relation to the control, almost all the analyzed elements have higher mean values, except selenium and cesium, whose mean in the controls (31.31, 22.73  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) that is above the obtained in the above (19.72, 22.27  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). In the case of uranium, no concentration was obtained for any of the bioindicators, since the values were below the detection limit of ICP-MS.

The average results of the workers' urine found for the other elements were: Li 30.42  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Be 0.25  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Al 33.44  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Cr 0.38  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Mn 0.72  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Fe 19.65  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Co 0.64  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ni 3.28  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Cu 59.80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Zn 523.60  $\mu\text{g L}^{-1}$ , As 20.44  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Sr 200.04  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Cd 0.18  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ba 6.49  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Hg 3.74  $\mu\text{g L}^{-1}$  and Pb 2.79  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

ATSDR (2002; 2007; 2012) establishes reference values for mean concentrations of some metals in urine and blood. In relation to urine only Be, Mn, Cd, and As are within the permitted levels - 0.28  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 1.19  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 0.185  $\mu\text{g L}^{-1}$  and less than 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively. The ATSDR (2007; 2012) averages for these elements are: Cr 0.22  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ni 1-3  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ba 1.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  and in Pb 0.66  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Similarly, Al presented high mean levels of 33.44  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Reference values for several elements in the urine were established by Batista et al. (2009) in Brazil. For Al, the mean value was 3.4  $\mu\text{g L}^{-1}$ , with a minimum and maximum range of 0.22 - 17.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ni, 1.3  $\mu\text{g L}^{-1}$  as mean value and intervals of 0.1-4.2  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Ba with intervals of 0.2-5.3  $\mu\text{g L}^{-1}$  and a mean of 1.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  and in the mean Pb of 0.8 and intervals lower than 0, 03-2.96  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Compared with the results of the present study, all the mentioned elements exceeded the maximum values found, 115, 77  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 8,55  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 30,37  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 13,88  $\mu\text{g L}^{-1}$ , for Al, Ni, Ba and Pb respectively.

An investigation carried out in the Araçuaí region by Silva (2011) found results that indicate contamination and exposure of the population of some communities to Al in plasma. This element is of natural origin and has as route of exposure "rock-soil-water-food".

In a study by Coelho et al. (2012) in Portugal in a deactivated mine in the Panasqueira where contamination of the volunteer individuals was identified, the means found for the elements As, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb and Se in the urine were 43.01; 0.83; 1.15; 1.36; 8.16; 4.54; 31.15  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Regarding blood results, the highest values of the exposed group were found in the elements Li, Ca, Mn, Fe, Co Ni, Sr, Cd, Ba, and Pb. On the other hand, in the controls Ba, Al, Cr, Cu, Zn, As, Si, Cs, and Hg obtained mean values higher than the values of mine workers.

For Al this situation can be explained by taking into account the irregular distribution of concentrations in the control group by means of the percentiles analyzes. When verifying the mean and maximum value obtained for the element in the exposed group, we have  $3.66 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $23.34 \mu\text{g L}^{-1}$ , significantly lower than that obtained for the  $7.42 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $123.43 \mu\text{g L}^{-1}$  controls. However, in 90% of cases, the value found was  $1.07 \mu\text{g L}^{-1}$ , which was relatively discrepant for both the mean and maximum values presented. which leads to the understanding that a single control was responsible for raising the element's mean. The case of Cr is similar to the previous one, the average value was  $0.77 \mu\text{g L}^{-1}$  and maximum  $10.73 \mu\text{g L}^{-1}$ , while in the 90% percentile the value is  $0.90 \mu\text{g L}^{-1}$ . In addition to the previous ones, Hg also presents this characteristic in the control group, observing the values of the mean  $0.96 \mu\text{g L}^{-1}$ , the maximum  $3.32 \mu\text{g L}^{-1}$  and the 90% percentile  $1.73 \mu\text{g L}^{-1}$ .

The other elements of the exposed samples As, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Se were  $1.45 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $0.14 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $1,062.64 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $12.85 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $15.27 \mu\text{g L}^{-1}$   $74.26 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $53.79 \mu\text{g L}^{-1}$ . When comparing with the results obtained by Nunes (2010)  $1.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $890 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $9.6 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $2.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $65, 4 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $89.3 \mu\text{g L}^{-1}$  for As, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Se, respectively, the elements Cd and Se are within what is proposed by the author, while As, Cu, Mn, Ni and Pb presented higher values.

Among the averages allowed by ATSDR (2007; 2012) in the blood, for Cadmium  $0.315 \mu\text{g L}^{-1}$  and values lower than  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  for As, this is above the allowed ( $1.43 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and cadmium ( $0.14 \mu\text{g L}^{-1}$ ) is within the mean.

Rodrigues et al. (2009) carried out a study in the Amazonian riverside population, in which the values found for Cu  $920 \mu\text{g L}^{-1}$  and Co  $0.40 \mu\text{g L}^{-1}$  are below those identified in Taquaral de Minas, where the averages were  $1,062.63 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $0.44 \mu\text{g L}^{-1}$  for Cu and Co respectively. The concentrations of this study are also high when compared to the maximum and minimum intervals of the elements Mn ( $5.1-14.7 \mu\text{g L}^{-1}$ ), Cu ( $494.9-2.383,8 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and Pb ( $5.9-330.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) analyzed by Rodrigues et al. (2008). On the other hand, the average of Freire et al. (2015) for Mn was  $12.85 \mu\text{g L}^{-1}$  in an evaluation with metalworking workers.

In relation to Coelho et al. (2012), the mean of the elements Pb, Mn, Se and Ni are  $4.54$ ;  $1.36$ ;  $31.15$  and  $8.16 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectively. When to Hg, the mean of the population in the metropolitan area of São Paulo was represented by  $66.00 \mu\text{g L}^{-1}$  (KUNO et al., 2013). ATSDR (2007) recommends a mean Pb value of  $1.5 \mu\text{g dL}^{-1}$ , which is lower than that of  $7.42 \mu\text{g dL}^{-1}$  in this study.

The analysis of the metal quantification showed significant differences ( $P < 0.05$ ) between the studied groups when compared to the control group for the two matrices studied.

Urine samples, such as the following, the differences were observed in eight of the following elements: Li, Be, Al, Mn, Cu, Cd, Hg and Pb. In blood, therefore, seven elements had significant concentrations: Li, Mn, As, Se, Sr, Cs and Pb, as shown in Table 8.

Table 8. Comparison between urine and blood samples from the control and exposed groups (P values)

Element	P value (Test t)	
	Urine Samples	Blood Samples
Li	0.0146*	0.0284*
Be	0.0026*	0.6997
Al	0.0126*	0.5825
Ca	0.1918	0.3862
Cr	0.0001	0.3264
Mn	0.0040*	0.0295*
Fe	0.0703	0.9234
Co	0.1675	0.0499*
Ni	0.0855	0.4206
Cu	<0.0001*	0.7481
Zn	0.8304	0.8301
As	0.0802	0.0014*
Se	0.0575	0.0002*
Sr	0.7818	0.0005*
Cd	0.0018*	0.4237
Cs	0.9945	<0.0001*
Ba	0.3654	0.1881
Hg	0.0043*	0.9579
Pb	0.0063*	<0.0001*

Asterisk indicates significantly different from control,  $P < 0.05$ .

In Tables 9 and 10 are presented the age groups and working time related to the concentration of the elements. The distribution of urine and blood in the age intervals occurred on a regular basis. The concentration with elements of high value in the urine occurred between 60-70 years, in Li, Fe, Co, Ni, Cd and Pb. In blood, these values were observed in the same age group in the Li, Al, Co, Cu, Sr, Cd and Ba elements.

Table 9. Relation ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) between elements in miners' urine and blood and its age groups.

Urine x age groups																					
Age group (years)	n	Li	Be	Al	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Cd	Cs	Ba	Hg	Pb	U
20-30	1	7.21	0.292	12.68	43736.14	<b>0.52</b>	0.22	11.36	0.318	0.73	54.27	172.84	17.73	<b>31.02</b>	73.64	0.10	<b>39.53</b>	1.076	1.11	<LOD	<LOD
30-40	1	36.52	0.089	<LOD	<b>144433.24</b>	0.15	0.23	15.64	0.699	3.82	50.66	546.09	<b>32.16</b>	24.44	<b>237.87</b>	0.07	27.28	5.726	<b>11.50</b>	2.38	<LOD
40-50	3	12.34	0.259	21.06	68027.37	0.29	0.50	17.09	0.643	3.35	58.29	372.67	25.31	25.06	141.67	0.17	25.49	2.065	4.10	1.47	<LOD
50-60	12	27.41	<b>0.294</b>	<b>44.97</b>	96837.02	0.42	<b>0.88</b>	18.31	0.639	3.48	<b>64.49</b>	<b>630.30</b>	20.14	18.30	222.96	0.18	19.75	7.545	3.46	2.37	<LOD
60-70	3	<b>78.36</b>	0.144	26.64	100571.70	0.42	0.75	<b>34.16</b>	<b>0.737</b>	<b>3.88</b>	50.26	626.55	17.53	21.77	235.45	<b>0.27</b>	27.33	<b>9.171</b>	3.27	<b>6.99</b>	<LOD
70-80	2	17.74	0.204	20.11	82666.62	0.27	0.49	15.85	0.668	2.03	55.58	119.50	14.77	9.09	141.17	0.14	13.84	5.820	3.03	2.62	<LOD
Blood x age groups																					
Age group (years)	n	Li	Be	Al	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Cd	Cs	Ba	Hg	Pb	U
20-30	1	0.28	<LOD	<LOD	52895.05	<LOD	<b>13.16</b>	569634.89	0.473	<LOD	980.42	6798.32	<b>1.89</b>	<b>62.98</b>	9.04	<LOD	6.19	0.707	<b>4.09</b>	<b>127.83</b>	<LOD
30-40	1	0.53	0.07	<LOD	56935.92	0.31	10.06	583184.53	0.427	<LOD	972.83	6610.94	1.30	49.63	8.43	0.08	<b>11.34</b>	1.769	2.57	41.93	<LOD
40-50	3	0.46	0.27	<LOD	54593.15	<LOD	11.72	579976.52	0.365	1.95	1066.04	6934.40	1.38	55.51	9.19	0.13	6.17	0.725	1.06	68.13	<LOD
50-60	12	0.72	<b>0.19</b>	5.03	53823.18	0.09	13.57	<b>609528.76</b>	0.430	<b>26.08</b>	1024.05	<b>7476.80</b>	1.44	53.54	11.87	0.15	7.11	1.634	0.58	67.85	<LOD
60-70	3	<b>1.67</b>	0.18	<b>6.75</b>	55196.04	0.41	11.81	582534.39	<b>0.489</b>	2.24	<b>1231.44</b>	6488.31	1.32	58.72	<b>12.21</b>	<b>0.20</b>	10.25	<b>1.784</b>	0.58	112.07	<LOD
70-80	2	0.56	<LOD	<LOD	<b>57206.33</b>	<b>1.79</b>	13.09	481565.41	0.484	5.23	1121.91	6710.40	1.62	42.73	10.94	0.13	6.03	1.240	0.31	54.60	<LOD

\*Bold indicates the maximum value in each age group

Table 10. Relation ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) between elements in miners' urine and blood and its working time.

Urine x working time																					
Worktime (years)	n	Li	Be	Al	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Cd	Cs	Ba	Hg	Pb	U
0 - 5	1	7.21	0.29	12.68	43736.14	<b>0.52</b>	0.22	11.36	0.32	0.73	54.27	172.84	17.73	<b>31.02</b>	73.64	0.10	<b>39.53</b>	1.08	1.11	<LOD	<LOD
5 - 10	3	29.25	0.19	25.54	123470.33	0.31	0.52	12.26	0.62	<b>4.34</b>	54.46	646.69	21.41	19.08	255.02	0.07	21.89	6.25	<b>8.01</b>	0.95	<LOD
10 - 15	3	28.85	0.23	15.96	<b>140695.56</b>	0.49	0.43	21.01	0.72	3.46	54.61	626.34	20.89	23.95	<b>294.30</b>	0.22	24.14	7.08	4.04	3.53	<LOD
15 - 20	3	13.62	0.23	31.74	92345.21	0.39	0.75	14.25	0.64	2.97	67.36	<b>771.14</b>	14.09	15.98	185.53	<b>0.25</b>	19.21	4.89	4.54	2.79	<LOD
20 - 30	4	<b>54.34</b>	<b>0.30</b>	38.11	87252.03	0.33	0.79	<b>34.17</b>	0.58	3.45	55.99	429.82	23.02	18.17	220.44	0.20	23.51	<b>12.56</b>	4.42	<b>6.15</b>	<LOD
30 - 40	6	36.85	0.29	39.19	68573.45	0.37	0.48	15.03	<b>0.83</b>	3.76	<b>70.11</b>	549.92	<b>26.35</b>	22.93	166.90	0.19	23.39	4.27	1.25	1.70	<LOD
40 - 50	2	9.72	0.17	<b>57.89</b>	73812.89	0.36	<b>2.20</b>	25.71	0.31	1.36	43.72	97.50	6.26	7.75	119.70	0.14	10.16	5.55	3.13	2.42	<LOD
Blood x working time																					
Worktime (years)	n	Li	Be	Al	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Cd	Cs	Ba	Hg	Pb	U
0 a 5	1	0.28	<LOD	<LOD	52895.05	<LOD	13.16	569634.89	0.473	<LOD	980.42	6798.32	<b>1.89</b>	<b>62.98</b>	9.04	0.000	6.19	0.71	<b>4.09</b>	<b>127.83</b>	<LOD
5 a 10	3	0.55	0.150	<LOD	51708.96	0.10	11.27	604320.51	0.407	<LOD	999.95	7394.31	1.41	54.84	9.81	0.108	<b>9.26</b>	1.07	1.06	35.88	<LOD
10 a 15	3	0.60	<b>0.231</b>	1.57	55434.99	0.02	11.22	588018.45	0.494	<LOD	1112.06	<b>7661.38</b>	1.11	60.70	11.53	0.163	7.93	0.84	0.52	71.98	<LOD
15 - 20	3	0.52	0.110	<LOD	<b>58011.23</b>	0.18	12.00	598673.46	0.353	5.81	1054.13	7202.76	1.29	52.24	11.14	0.064	6.51	0.77	0.67	63.24	<LOD
20 - 30	4	<b>1.30</b>	0.227	1.74	53973.27	0.15	12.33	<b>605198.10</b>	0.412	2.09	984.13	7323.04	1.44	53.11	12.03	0.107	7.38	1.76	0.64	109.56	<LOD
30 - 40	6	0.92	0.175	<b>11.49</b>	53807.86	<b>0.79</b>	<b>15.78</b>	570567.91	<b>0.505</b>	<b>51.63</b>	1102.18	6572.97	1.59	49.81	<b>12.23</b>	<b>0.207</b>	7.04	<b>2.45</b>	0.85	71.85	<LOD
40 - 50	2	0.50	0.160	<LOD	56194.24	<LOD	11.10	565478.05	0.343	0.20	<b>1174.87</b>	7258.12	1.64	52.85	9.01	0.205	7.56	0.81	0.29	61.61	<LOD

\*Bold indicates the maximum value in each age group



By establishing an association between working time in the mine with a high concentration in the urine, the elements Li, Be, Fe, Ba and Pb were more observed between 20-30 years of work. In the blood, these values were concentrated in the time range between 30-40 years, in Al, Cr, Ni Co, Mn, Sr, Cd and Ba.

This result indicates that miners with longer working hours have higher blood concentrations due to possible chronic exposure. The three miners within the age range of 60-70 years have been working in the mining activity for more than 30 years, confirming that prolonged exposure and the age factor interfere with an increase in metal concentration of these bioindicators.

#### **4. Conclusions**

The conclusions of the present study indicate that workers in the mining areas are exposed both environmentally and occupationally. The high concentrations of the metals, especially the toxins found in the environmental samples (Ba, Cd, Hg, U), are capable of promoting effects on human health. The dust found in the underground part of the mine superimposed on soil or rocks, are in direct contact with the dermal and ingestion pathways of workers. This situation tends to promote genotoxic effects such as those observed by the significant increase in the number of alterations (MN, BN and KL) found when compared with the control individuals. Biomonitoring analyzes showed levels of Cr, Ni Ba and Pb in the urine and As and Pb in the blood higher than the ATSDR averages. In the association between age groups and working time in gems extraction activities, the results indicate that miners with longer working hours have higher concentrations in the blood due to a probable chronic exposure.

The conclusive results of this study are fundamental both for the knowledge of the levels of concentration found in the exposed population and the simulation of similar conditions in other areas of artisanal mining. The development of preventive or remediation measures through the evaluation and understanding between the direct relation obtained by exposure and the subsequent biological effect may lead to a reduction of health damage or cancer risks in humans. Therefore, the results found are important in conducting environmental and biological monitoring activities of mineral exploration areas.

## 5. Acknowledgments

The authors are grateful to FAPEMIG, FAPESP, CNPq, SUS (PPSUS) and UFVJM for financial supports and fellowships.

## 6. References

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Arsenic 2007. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-2.pdf> .(Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Barium 2007. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-24.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Beryllium. 2002. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-4.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Cadmium 2012. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-5.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Chromium 2012. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-151.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Lead 2007. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-13.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Manganese 2012. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-151.pdf>. (Accessed 5 May 2018).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxiguide for Nickel. 2005. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-15.pdf>.

Amorim, E. P. (2012). Avaliação da Concentração de Metais e Outros Elementos de Interesse em Amostras de Sedimentos dos Estuários de Santos/ São Vicente e Cananéia, Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.

Arul, P., Shetty, S., Masilamani, S., Akshatha, C. and Naveen Kumar, B. (2017). Evaluation of micronucleus in exfoliated buccal epithelial cells using liquid-based cytology preparation in petrol station workers. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 38(3), p.273. [http://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo\\_26\\_16](http://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo_26_16)

Azevedo FA, Nascimento ES, Chasin AM. Mercúrio. (2003). In: Azevedo FA, Chasin AAM, organizadores. *Metais: gerenciamento da toxicidade*. São Paulo: Atheneu; p. 299-352.

Balmain, A., Gray, J. and Ponder, B. (2003). The genetics and genomics of cancer. *Nature Genetics*, 33(3s), pp.238-244. <https://www.nature.com/articles/ng1107>.

Batista, B., Rodrigues, J., Nunes, J., de Oliveira Souza, V. and Barbosa, F. (2009). Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for

sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. *Analytica Chimica Acta*, 639(1-2), pp.13-18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.03.016>.

Batista, B., Rodrigues, J., Tormen, L., Curtius, A. and Barbosa Jr, F. (2009). Reference concentrations for trace elements in urine for the Brazilian population based on q-ICP-MS with a simple dilute-and-shoot procedure. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(8), pp.1406-1413. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532009000800004>.

Biondi, C., Nascimento, C., Fabricio Neta, A. and Ribeiro, M. (2011). Teores de Fe, Mn, Zn, Cu, Ni E Co em solos de referência de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35(3), pp.1057-1066. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000300039>.

Bogo, D. (2012). Avaliação da atividade antitumoral in vitro e in Vivo de compostos de liquens. 2012, 110 f. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campina Grande.

Bolognesi, C., Knasmueller, S., Nersesyan, A., Thomas, P. and Fenech, M. (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 753(2), pp.100-113. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002>.

Bonassi, S., Neri, M., Lando, C., Ceppi, M., Lin, Y., Chang, W., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E. and Fenech, M. (2003). Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus project. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 543(2), pp.155-166. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00013-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00013-9).

Caires, S. M. D. E. (2009). Determinação Dos Teores Naturais De Metais Pesados Em Solos do Estado de Minas Gerais como Subsídio ao Estabelecimento de valores de Referência de Qualidade. Tese de Doutorado - 270 p. - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG.

Casarett, L., Doull, J. and Klaassen, C. (2001). *Casarett and Doull's toxicology*. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division.

Castañeda-Yslas, I., Arellano-García, M., García-Zarate, M., Ruíz-Ruíz, B., Zavala-Cerna, M. and Torres-Bugarín, O. (2016). Biomonitoring with Micronuclei Test in Buccal Cells of Female Farmers and Children Exposed to Pesticides of Maneadero Agricultural Valley, Baja California, Mexico. *Journal of Toxicology*, 2016, pp.1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7934257>.

Cheyns, K., Banza Lubaba Nkulu, C., Ngombe, L., Asosa, J., Haufroid, V., De Putter, T., Nawrot, T., Kimpanga, C., Numbi, O., Ilunga, B., Nemery, B. and Smolders, E. (2014). Pathways of human exposure to cobalt in Katanga, a mining area of the D.R. Congo. *Science of The Total Environment*, 490, pp.313-321. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.014>.

Coelho, P., García-Lestón, J., Silva, S., da Costa, C., da Costa, S., Coelho, M., Laffon Lage, B., Mendez, E. and Teixeira, J. (2011). Geno- and Immunotoxic Effects on Populations Living Near a Mine: A Case Study of Panasqueira Mine in Portugal. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 74(15-16), pp.1076-1086. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2011.582314>.

Coelho, P., Costa, S., Silva, S., Walter, A., Ranville, J., Sousa, A., Costa, C., Coelho, M., García-Lestón, J., Pastorinho, M., Laffon, B., Pásaro, E., Harrington, C., Taylor, A. and Teixeira, J. (2012). Metal(Loid) Levels in Biological Matrices from Human Populations Exposed to Mining Contamination—Panasqueira Mine (Portugal). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(13-15), pp.893-908. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2012.690705>.

Colacioppo, S. Saúde do trabalhador e riscos químicos. In: PHILIPPI JR, A (ed.). Saneamento, saúde e ambiente – Fundamentos para um desenvolvimento sustentável. Manole, p. 517-552. Barueri, 2005.

Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais - CPRM. (2003). Mapa Geológico de Minas Gerais.: CPRM/COMIG, (Meio digital). Belo Horizonte.

Cruz, A.D., McArthur, A., Silva, C., Curado, M. and Glickman, B. (1994). Human micronucleus counts are correlated with age, smoking, and cesium-137 dose in the Goiânia (Brazil) radiological accident. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 313(1), pp.57-68. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(94\)90033-7](https://doi.org/10.1016/0165-1161(94)90033-7).

Dixon, H. (1996). The Biochemical Action of Arsonic Acids Especially As Phosphate Analogues. *Advances in Inorganic Chemistry*, pp.191-227. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(08\)60131-2](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(08)60131-2).

Dorne, J.L., Kass, G.E., Bordajandi, L.R., Amzal, B., Bertelsen, U., Castoldi, A.F., Heppner, C., Eskola, M., Fabiansson, S.U., Ferrari, P., Scaravelli, E., Dogliotti, E., Fuerst, P., Boobis, A.R., & Verger, P.J. (2011). Human risk assessment of heavy metals: principles and applications. *Metal ions in life sciences*, 8, 27-60. <http://dx.doi.org/10.1039/9781849732116-00027>.

Dearfield, K., Cimino, M., McCarroll, N., Mauer, I. and Valcovic, L. (2002). Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521(1-2), pp.121-135. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00236-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00236-X).

Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A., Surralles, J., Crott, J., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D., Tucker, J. and Thomas, P. (2010). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), pp.125-132. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq052>.

Ferreira AP, Wermelinger ED. (2013). Concentrações Séricas De Metais E Suas Implicações Para A Saúde Pública. *J Health Sci Inst*. 31(1), Pp.13-9.

Flores M.; Yamaguchi M. U. (2008). Teste Do Micronúcleo: Uma Triagem Para Avaliação Genotóxica. *Revista Saúde e Pesquisa*. v. 1, n. 3, p. 337-340 ISSN 1983-1870.

Freire, C., Koifman, R., Fujimoto, D., de Oliveira Souza, V., Barbosa, F. and Koifman, S. (2015). Reference values of cadmium, arsenic and manganese in blood and factors associated with exposure levels among adult population of Rio Branco, Acre, Brazil. *Chemosphere*, 128, pp.70-78. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.083>

Ghose, U., & Parida, B.B. (1995). Cytological study of exfoliated buccal mucosa cells of tribes in Orissa State (India) with high risk for oral cancer. *Indian journal of cancer*, 32 (3), 95-9.

Hall, J. and Guyton, A. (2011). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Philadelphia, Pa.: Saunders, London.

Holland, N., Bolognesi, C., Kirschvolders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S. And Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 659(1-2), pp.93-108. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.03.007>.

Joca, F. J. G. (2009). Avaliação De Genotoxicidade De Trabalhadores Expostos a Sílica. Centro De Estudo Da Saúde Dos Trabalhadores E Ecologi Humana – Cesteh. Rio De Janeiro.

Júnior. R. M. C. (2016). Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de elementos traço em amostras de solo e plantas de girassol utilizando espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. Tese de Doutorado. 97p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Klaassen, C. (2000). *Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull (2a. ed.)*. Grupo A - AMGH.

Kuno, R., Roquetti, M., Becker, K., Seiwert, M. and Gouveia, N. (2013). Reference values for lead, cadmium and mercury in the blood of adults from the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(3), pp.243-249. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.05.010>.

MANAHAN, S.E. (1999). *Environmental Chemistry*, 7th ed.: Lewis Publishers. New York.

Mitchelmore, C. and Chipman, J. (1998). DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 399(2), pp.135-147. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00252-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00252-2).

Molina-Villalba, I., Lacasaña, M., Rodríguez-Barranco, M., Hernández, A., Gonzalez-Alzaga, B., Aguilar-Garduño, C. and Gil, F. (2015). Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas. *Chemosphere*, 124, pp.83-91. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.016>.

Motgi, A., Diwan, N., Shete, M., Chavan, M., Chowdhery, A. and Channe, P. (2014). Assessment of cytogenic damage in the form of micronuclei in oral epithelial cells in patients using smokeless and smoked form of tobacco and non-tobacco users and its relevance for oral cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(1), p.165. <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1482.131454>.

Nunes, J.A., Batista, B.L., Rodrigues, J.L., Caldas, N.M., Neto, J.A., & Barbosa, F. (2010). A simple method based on ICP-MS for estimation of background levels of arsenic, cadmium, copper, manganese, nickel, lead, and selenium in blood of the Brazilian population. *Journal of*

*toxicology and environmental health. Part A*, 73(13-14), pp.878-87.  
<https://doi.org/10.1080/15287391003744807>.

Oga, S. (2008). *Fundamentos da Toxicologia*. 3 ed. Editora Atheneu. São Paulo.

Ogden, G., Wight, A. and Rice, P. (2007). Effect of alcohol on the oral mucosa assessed by quantitative cytomorphometry. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 28(5), pp.216-220.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1999.tb02027.x>.

Ono, F., Guilherme, L., Penido, E., Carvalho, G., Hale, B., Toujaguez, R. and Bundschuh, J. (2011). Arsenic bioaccessibility in a gold mining area: a health risk assessment for children. *Environmental Geochemistry and Health*, 34(4), pp.457-465.  
<https://doi.org/10.1007/s10653-011-9444-9>.

Paruchuri, Y., Siuniak, A., Johnson, N., Levin, E., Mitchell, K., Goodrich, J., Renne, E. and Basu, N. (2010). Occupational and environmental mercury exposure among small-scale gold miners in the Talensi–Nabdam District of Ghana's Upper East region. *Science of The Total Environment*, 408(24), pp.6079-6085. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.08.022>

Pedrosa-Soares, A.C.; Dias, P.H.A. (2005). Geologia e Recursos Minerais do Município de Araçuaí, Minas Gerais. In: MELO, M.C (Org.). *Cartografia Temática*. v. 1, 1 ed. CETEC-Centro Tecnológico de Minas Gerais, p. 832. Belo Horizonte.

Reid, T., Feig, D. and Loeb, L. (1994). Mutagenesis by Metal-Induced Oxygen Radicals. *Environmental Health Perspectives*, 102, p.57.

Rodrigues, J., Batista, B., Nunes, J., Passos, C. and Barbosa, F. (2008). Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements. *Science of The Total Environment*, 405(1-3), pp.370-376.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.002>.

Rodrigues, J., Batista, B., Fillion, M., Passos, C., Mergler, D. and Barbosa, F. (2009). Trace element levels in whole blood of riparian villagers of the Brazilian Amazon. *Science of The Total Environment*, 407(13), pp.4168-4173.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.041>.

Santos, A. P. R, Pêgo, J. S. (2014). Riscos associados aos garimpos de gemas no povoado De Taquaral, Itinga, MG: dois contextos dilemáticos. IFNMG. Araçuaí.

Saran, R., Tiwari, R., Reddy, P. and Ahuja, Y. (2008). Risk assessment of oral cancer in patients with pre-cancerous states of the oral cavity using micronucleus test and challenge assay. *Oral Oncology*, 44(4), pp.354-360. [10.1016/j.oraloncology.2007.05.002](https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2007.05.002).

Silva, C. R. Da. (2011). Avaliação do risco geológico à exposição de elementos químicos à saúde ambiental, na região de Araçuaí-Itinga, Minas Gerais – Brasil. Tese de Doutorado em Geologia – Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 138 p. Rio de Janeiro.

Steckling, N., Boese-O'Reilly, S., Gradel, C., Gutschmidt, K., Shinee, E., Altangerel, E., Badrakh, B., Bondush, I., Surenjav, U. and Ferstl, P. (2011). Mercury exposure in female

artisanal small-scale gold miners (ASGM) in Mongolia: An analysis of human biomonitoring (HBM) data from 2008. *Science of The Total Environment*, 409(5), pp.994-1000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.11.029>

Stich, H. and Rosin, M. (1984). Micronuclei in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer Letters*, 22(3), pp.241-253. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(84\)90159-9](https://doi.org/10.1016/0304-3835(84)90159-9)

Stich, H., Rosin, M., Hornby, A., Mathew, B., Sankaranarayanan, R. and Nair, M. (1988). Remission of oral leukoplakias and micronuclei in tobacco/betel quid chewers treated with beta-carotene and with beta-carotene plus vitamin A. *International Journal of Cancer*, 42(2), pp.195-199. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910420209>.

Torres-Bugarín, O., Zavala-Cerna, M., Nava, A., Flores-García, A. and Ramos-Ibarra, M. (2014). Potential Uses, Limitations, and Basic Procedures of Micronuclei and Nuclear Abnormalities in Buccal Cells. *Disease Markers*, pp.1-13. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/956835>

Vieira, V. C. (2012). A condição social e econômica do garimpeiro da cidade de Diamantina: Uma história contada por seus protagonistas. UFVJM, Minas Gerais – Brasil. *Revista Vozes dos Vales*. Nº. 02 – Ano I.

Wegner, R. (2000). Lung function, biological monitoring, and biological effect monitoring of gemstone cutters exposed to beryls. *Occupational and Environmental Medicine*, 57(2), pp.133-139. <http://dx.doi.org/10.1136/oem.57.2.133>.

## **Considerações finais**

Os resultados deste estudo indicam que os trabalhadores das áreas de mineração estão expostos a agentes químicos ambientais e ocupacionais, capazes de produzir efeitos adversos a saúde humana. Altas concentrações de metais tóxicos foram encontradas nas amostras ambientais (Ba, Cd, Hg, U).

Pelo modo com que a atividade de exploração de gemas é conduzida, a poeira encontrada na parte subterrânea da mina, superposta no solo ou nas rochas está em contato direto com os caminhos dérmicos e de ingestão destes indivíduos. Situações como esta, tendem a promover efeitos genotóxicos, como os observados pelo aumento significativo do número de alterações (MN, BN e KL) encontradas nos expostos quando comparadas com os controles.

As análises de biomonitoramento mostraram concentrações de Cr, Ni Ba e Pb na urina e As e Pb no sangue superiores às médias permitidas pela ATSDR. Na comparação entre as faixas etárias e tempo de trabalho nas atividades de extração de gemas, os resultados indicam que aqueles com horas de trabalhos mais longas apresentam maiores concentrações no sangue devido a uma provável exposição crônica.

Os resultados conclusivos deste estudo são fundamentais tanto para o conhecimento das concentrações encontradas na população exposta quanto para a simulação de condições similares em outras áreas da mineração artesanal. O desenvolvimento de medidas preventivas ou de remediação através da avaliação e compreensão entre a relação direta obtida pela exposição e o subsequente efeito biológico pode levar a uma redução dos riscos e dos efeitos a saúde. Portanto, os resultados encontrados são importantes na condução de atividades de intervenção monitoramento ambiental e biológico destas áreas de exploração mineral.