

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

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

**Alice Rodrigues de Matos**

**ESTUDO DE AVALIAÇÃO DE RISCO E BIOMONITORAMENTO NA BACIA DO  
RIO DOCE APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO**

**Teófilo Otoni  
2021**

**Alice Rodrigues de Matos**

**ESTUDO DE AVALIAÇÃO DE RISCO E BIOMONITORAMENTO NA BACIA DO  
RIO DOCE APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO**

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

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Cristina da Silva Faria

**Teófilo Otoni**

**2021**

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

M433e Matos, Alice Rodrigues de.

Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento na bacia do rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão. / Alice Rodrigues de Matos. Teófilo Otoni, 2021.

143 p. ; il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Programa de Pós-graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues.

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

1. Avaliação ambiental. 2. Barragem de Fundão. 3. Biomonitoramento humano. 4. Elementos químicos. 5. Rio Doce. I. Título.

**CDD: 622**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**ALICE RODRIGUES DE MATOS**

**Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento na bacia do rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão**

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

Orientador: Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina da Silva

Faria

Data de aprovação 27/04/2021.

Dr. Jairo Lisboa Rodrigues (UFVJM, presidente da Banca)

Dra. Márcia Cristina da Silva Faria (UFVJM, Co-orientadora)

Dr. Wederson Marcos Alves (UFVJM)

Dr. Bruno Lemos Batista (UFABC)

Dr. Jeferson Gomes da Silva (UFJF)



Documento assinado eletronicamente por **Jeferson Gomes da Silva, Usuário Externo**, em 28/04/2021, às 20:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **bruno lemos batista, Usuário Externo**, em 29/04/2021, às 10:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Jairo Lisboa Rodrigues, Servidor**, em 30/04/2021, às



12:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Márcia Cristina da Silva Faria, Servidor**, em 30/04/2021, às 12:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wederson Marcos Alves, Servidor**, em 30/04/2021, às 13:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0341092** e o código CRC **CF6DE0CD**.

Aos meus pais pelo amor e dedicação,  
aos meus irmãos pelo carinho e amizade,  
e ao meu marido pelo companheirismo e  
amor nestes anos. A todas as pessoas  
atingidas pelo rompimento da barragem  
de Fundão.

## AGRADECIMENTOS

Neste primeiro momento agradeço a Deus por ter me iluminado, dado força, sabedoria e guiado meus passos neste mestrado.

Aos meus queridos pais, Ataíde Rodrigues e Marilene Matos, pelo exemplo de vida, pelo amor e carinho que sempre me deram. Pelo apoio aos meus estudos e reconhecimento da importância que este mestrado tem para mim.

Aos meus irmãos, Fabiana e Felipe Matos, pela amizade, por sempre estarem dispostos a me ajudar e por suas constantes dicas e ensinamentos.

Ao meu marido Dante Rodrigues, pelo incentivo, pelas críticas construtivas, companheirismo ao longo deste caminho e por todo seu amor e carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela confiança depositada, pelo auxílio em todos os momentos, ensinamentos transmitidos, conselhos, críticas e sugestões.

À co-orientadora Profa. Dr<sup>a</sup>. Márcia Cristina da Silva Faria, pela orientação nos momentos que Jairo não pode estar presente e seus constantes ensinamentos.

Aos meus colegas de trabalho da SRS/Governador Valadares pelo apoio e incentivo nestes anos de mestrado.

Aos colegas de laboratório do ICET/UFVJM, Heberon Silva, Sumaia, Mayra Santos e Rodrigo Hott, pelo auxílio no preparo das amostras.

À UFVJM/Teófilo Otoni, por proporcionar minha formação profissional e pela oportunidade de realização deste mestrado.

À toda equipe do Laboratório Macrorregional da SRS/Teófilo Otoni pelo auxílio nas coletas das amostras de sangue e processamento, assim como a empresa CERTO Distribuição por fazer parte desta pesquisa.

À equipe da Universidade Federal do ABC, Dr. Bruno Batista, Msc. Bruna Freire e Dr. Rodrigo Pereira, pelo auxílio no processamento de todas as amostras no ICP-MS e pelos ensinamentos.

À UFJF/GV, Dr. Jeferson Silva, pelo auxílio na liofilização das amostras de peixes.

As Secretarias Municipais de Saúde de Aimorés e Governador Valadares pelo auxílio nas coletas das amostras de sangue, peixe e processamento, assim como toda a comunidade de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce por fazerem parte desta pesquisa, incluindo os pescadores.

A todas as pessoas atingidas pelo rompimento da barragem de Fundão.

Aos que acreditaram na minha capacidade, que torceram pela minha vitória e que me ajudaram de alguma maneira para a conquista de mais um sonho.

A todos vocês, fica a minha eterna gratidão.

“O sertão vai virar mar  
É o mar virando lama  
Gosto amargo do Rio Doce  
De Regência a Mariana

Mariana, Marina, Maria, Márcia, Mercedes, Marília  
Quantas famílias com sede, quantas panelas vazias?  
Quantos pescadores sem redes e sem canoas?  
Quantas pessoas sofrendo, quantas pessoas?

Quantas pessoas sem rumo como canoas sem remos  
Como pescadores sem linha e sem anzóis?  
Quantas pessoas sem sorte, quantas pessoas com fome?  
Quantas pessoas sem nome, quantas pessoas sem voz?”

**Cacimba de Mágoa. Gabriel Pensador e Falamansa  
(PENSADOR; CRUZ, 2016)**



## RESUMO

No dia 5 de novembro de 2015, ocorreu o maior desastre ambiental no Brasil provocado pelo rompimento da barragem de Fundão, contaminando a bacia do rio Doce. Quatro anos depois, persiste a preocupação a respeito da contaminação por metais na água, nos peixes e nos humanos. Este é o primeiro estudo em Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) e Ilha das Pimentas (Governador Valadares) após o desastre ambiental. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivos avaliar o risco de exposição à saúde humana através da determinação das concentrações de elementos químicos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) nas brânquias e tecido muscular dos peixes, na água e lama; bem como realizar o estudo de biomonitoramento humano das localidades de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas. Para isso, foi feita a aplicação de um questionário no estudo de biomonitoramento humano, coleta de sangue, soro e urina dos ribeirinhos; além da análise de água, lama e peixes, sempre utilizando a espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) para a quantificação dos elementos químicos em todas as amostras coletadas. Os resultados mostram que a água do rio Doce apresenta parâmetros dentro dos valores estabelecidos na resolução, indo ao encontro do percentual baixo de micronúcleos e anormalidades nucleares encontrados nos peixes. As amostras de lama também apresentaram concentrações dentro dos valores estabelecidos e em comparação com rejeito depositado em Fundão. As brânquias apresentam resultados de bioacumulação maior em comparação à musculatura dos peixes nos elementos Al, Ba, Cr, Fe, Mn, Se e Zn. No tecido muscular dos peixes, Fe e Se tiveram altas concentrações, porém no cálculo de estimativa diária, não apresentou risco à saúde ao considerar o maior consumo avaliado. As concentrações de As, Al, Cd, Ni e Mn nas matrizes biológicas estão acima dos valores de referências brasileiras. As principais correlações foram observadas entre Co, Cr, Mn, Ni e Pb no sangue e o consumo de cigarro. Os presentes dados sugerem que não há risco de consumo de peixes em porções diárias de 60g nestas localidades. A lama e água do rio Doce não apresentam concentrações dos elementos químicos alterados, porém a bioacumulação de elementos nas brânquias dos peixes sugerem um indicador de poluição ambiental. O biomonitoramento humano, por sua vez, demonstrou concentrações elevadas de alguns elementos tóxicos, com exposição mais acentuada na Ilha das Pimentas.

**Palavras chave:** Avaliação ambiental. Barragem de Fundão. Biomonitoramento humano. Elementos químicos. Rio Doce.

## ABSTRACT

On November 5th, 2015, the greatest environmental disaster in Brazil occurred due to the rupture of the Fundão dam, contaminating the Doce River basin. Four years later, concern about contamination by metals in water, fish and humans persists. This is the first study in Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) and Ilha das Pimentas (Governador Valadares) after the environmental disaster. In this sense, the present study aims to assess the risk of exposure to human health by determining the concentrations of chemical elements (Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) in the gills and muscle tissue of fish, in water and mud; as well as conducting the study of human biomonitoring in the locations of Santo Antônio do Rio Doce and Ilha das Pimentas. For this, a questionnaire was applied in the human biomonitoring, collection of blood, serum and urine from riverside dwellers; in addition to the analysis of water, mud and fish, always using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the quantification of chemical elements in all collected samples. The results show that the water of the Doce River presents parameters within the values established in the resolution, meeting the low percentage of micronuclei and nuclear abnormalities found in fishes. The mud samples also showed concentrations within the established values and in comparison with tailings deposited in Fundão. The gills present higher bioaccumulation of Al, Ba, Cr, Fe, Mn, Se and Zn. The muscle tissues of the evaluated fishes contained high concentrations of Fe and Se, however in the calculation of the daily estimate, it did not present any risk to health when considering the higher consumption evaluated. The concentrations of As, Al, Cd, Ni and Mn in the biological matrices are above Brazilian references value. The main correlations were observed between Co, Cr, Mn, Ni and Pb in the blood and cigarette consumption. The present data suggest that there is no risk of fish consumption in daily portions of 60g in these locations. The mud and the Doce River water do not present altered concentrations of chemical elements, but the bioaccumulation of elements in the fish gills suggests an indicator of environmental pollution. Human biomonitoring, in turn, demonstrated high concentrations of some toxic elements, with more accentuated exposure in Ilha das Pimentas.

**Keywords:** Environmental assessment. Fundão Dam. Human biomonitoring. Chemical elements. Doce River.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Municípios atingidos pelo rompimento da Barragem de Fundão.....	22
Figura 2	Anormalidades nucleares e micronúcleos em eritrócitos de peixes.....	33
Figura 3	Linha do tempo das coletas realizadas durante o ano de 2020.....	40
Figura 4	Lama depositada nas ruas e casas de moradores de Governador Valadares.....	41
Figura 5	Distribuição dos materiais para os voluntários .....	44
Figura 6	Coleta de sangue em Teófilo Otoni, Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce .....	51
Figura 7	Mapa da localização da coleta água e peixe em Ilha das Pimentas .....	53
Figura 8	Mapa da localização da coleta de água e peixe em Santo Antônio do Rio Doce .....	54
Figura 9	Barco usado na pesca; coleta do sangue; confecção de lâminas; medição do peixe .....	55
Figura 10	Coleta de água e lama no bairro São Paulo .....	58
Figura 11	Coleta de água e lama no bairro Ilha dos Araújo's .....	58
Figura 12	Coleta de água e lama no bairro São Pedro .....	59
Figura 13	Mapa da cidade com os três pontos das coletas de água e lama em Governador Valadares .....	59
Figura 14	Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Santo Antônio do Rio Doce .....	66
Figura 15	Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Ilha das Pimentas .....	67
Figura 16	Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Teófilo Otoni .....	67
Figura 17	Anormalidades nucleares encontradas nos peixes .....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Pesquisas que avaliam a exposição aos elementos químicos no sangue, soro e urina .....	29
Tabela 2	Condições operacionais do ICP-MS para análise de água, lama, peixes, sangue, soro e urina .....	47
Tabela 3	Parâmetros analíticos para determinação quantitativa dos elementos químicos em água, lama, peixe, sangue, soro e urina no ICP-MS .....	48
Tabela 4	Coordenadas dos pontos de coleta de água e peixe em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce.....	53
Tabela 5	Coordenadas dos pontos de coleta de água e lama em Governador Valadares .....	59
Tabela 6	Caracterização sociodemográfica da população de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni.....	63
Tabela 7	Sinais e sintomas presentes na população de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas após o rompimento da barragem de Fundão .....	64
Tabela 8	Consumo de água e peixes na população de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni .....	65
Tabela 9	Distribuição das médias dos tamanhos (cm) dos peixes, valores mínimo e máximo, de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie do peixe .....	68
Tabela 10	Distribuição das médias dos pesos (g) dos peixes, valores mínimo e máximo, de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie do peixe.....	69
Tabela 11	Médias das frequências (%) de micronúcleos dos peixes da Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie e sazonalidade.....	70
Tabela 12	Frequências de micronúcleos em eritrócitos de peixes de água doce em diferentes estudos .....	71
Tabela 13	Comparação das médias das % de micronúcleos dos peixes de acordo com a sazonalidade.....	73
Tabela 14	Comparação das médias das % de micronúcleos dos peixes de acordo com as localidades.....	73

Tabela 15	Concentração total de elementos químicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) das amostras de água do rio Doce por ponto de coleta .....	74
Tabela 16	Distribuição das médias (%) de água do tecido muscular dos peixes e brânquias, após liofilização, coletados em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce .....	76
Tabela 17	Concentração total ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) de elementos químicos essenciais no tecido muscular dos peixes de acordo com as localidades e classificação .....	77
Tabela 18	Concentração total ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) de elementos químicos tóxicos no tecido muscular dos peixes de acordo com as localidades e classificação .....	78
Tabela 19	Correlação entre o tamanho e peso dos peixes com os elementos químicos.	80
Tabela 20	Mediana ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) das brânquias e tecido muscular dos peixes por elemento químico.....	80
Tabela 21	Estimativa de ingestão diária de elementos essenciais ( $\text{mg dia}^{-1}$ ), considerando diferentes cenários, de amostras de peixes em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce .....	83
Tabela 22	Estimativa de ingestão diária de elementos tóxicos ( $\text{mg dia}^{-1}$ ) considerando diferentes cenários, de amostras de peixes em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce .....	83
Tabela 23	Concentração dos elementos químicos ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) em amostras de lama em Governador Valadares .....	84
Tabela 24	Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras sangue total em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	87
Tabela 25	Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras soro em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	88
Tabela 26	Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	88
Tabela 27	Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	89
Tabela 28	Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de sangue total	

	em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	93
Tabela 29	Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de soro em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	94
Tabela 30	Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	94
Tabela 31	Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência .....	95
Tabela 32	Concentração dos elementos químicos em amostras de sangue total ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e urina ( $\mu\text{g g}^{-1}$ creatinina) por grupo de estudo e sexo .....	100
Tabela 33	Concentração dos elementos químicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de sangue total e soro por grupo de estudo e faixa etária.....	101
Tabela 34	Correlação entre a idade, consumo de cigarro, bebida alcoólica e peixe com os elementos químicos.....	103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica
AFS	Espectrometria de fluorescência atômica
Al	Alumínio
NA	Anormalidades nucleares
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APP	Áreas de preservação permanente
As	Arsênio
As (III)	Arsênio trivalente
As (V)	Arsênio pentavalente
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
Ba	Bário
Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
Co	Cobalto
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
Cr	Crômio
Cu	Cobre
DP	Desvio padrão
EID	Estimativa de Ingestão Diária
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ES	Espírito Santo
ESF	Estratégia da Saúde da Família
ETA	Estação de tratamento de água
Fe	Ferro
Hg	Mercúrio
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
IC	Intervalo de confiança
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente

ICP OES	Espectrometria de emissão ótica com plasma
IGAM	Instituto Mineiro de Gestão das Águas
Ir	Írídio
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
Max	Valor máximo
Min	Valor mínimo
MG	Minas Gerais
MN	Micronúcleo
Mn	Manganês
N	População amostral
Ni	Níquel
NTU	Unidade nefelométrica de turbidez
Pb	Chumbo
pH	Potencial hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rh	Ródio
SAAE	Serviço Autônomo de Água e Esgoto
Se	Selênio
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMAH	Hidróxido de tetrametilamônio
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
VR	Valor de referência
Zn	Zinco
Y	Ítrio



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Bacia hidrográfica do rio Doce.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Rompimento da barragem de Fundão.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3 Biomonitoramento humano .....</b>	<b>27</b>
<b>2.4 Biomonitoramento ambiental.....</b>	<b>29</b>
<b>2.4.1 Micronúcleo .....</b>	<b>31</b>
<b>2.5 Avaliação de risco à saúde humana .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6 Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado .....</b>	<b>36</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1 Considerações éticas .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Desenho do estudo e períodos de coleta .....</b>	<b>39</b>
<b>3.3 Caracterização das áreas estudadas .....</b>	<b>40</b>
<b>3.4 Critérios para biomonitoramento humano .....</b>	<b>42</b>
<b>3.5 Caracterização do ambiente e da população através da aplicação do questionário .</b>	<b>44</b>
<b>3.6 Reagentes e soluções .....</b>	<b>45</b>
<b>3.7 Preparo da curva de calibração e análise no ICP-MS .....</b>	<b>46</b>
<b>3.8 Avaliação biológica humana .....</b>	<b>50</b>
<b>3.8.1 Coleta e preparo das amostras .....</b>	<b>50</b>
<b>3.8.1.1 Sangue humano .....</b>	<b>50</b>
<b>3.8.1.2 Urina.....</b>	<b>52</b>
<b>3.8.1.3 Determinação da concentração de creatinina urinária.....</b>	<b>52</b>
<b>3.9 Avaliação dos peixes .....</b>	<b>53</b>
<b>3.9.1 Coleta dos peixes do rio Doce e confecção de lâminas .....</b>	<b>53</b>
<b>3.9.2 Remoção das brânquias e tecido muscular dos peixes para análise dos elementos químicos .....</b>	<b>56</b>
<b>3.9.3 Preparação das lâminas e análise microscópica .....</b>	<b>56</b>
<b>3.10 Coleta e análise de elementos químicos em amostras de água e lama .....</b>	<b>57</b>
<b>3.11 Análise estatística.....</b>	<b>60</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>4.1 Caracterização do ambiente e da população através da aplicação do questionário .</b>	<b>63</b>

<i>4.1.1 Características sociodemográficas das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni.....</i>	<i>63</i>
<i>4.1.2 Sinais e sintomas das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas após o rompimento da barragem de Fundão.....</i>	<i>64</i>
<i>4.1.3 Consumo de água e peixes das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni .....</i>	<i>65</i>
<b>4.2 Peixes.....</b>	<b>68</b>
<i>4.2.1 Quantificação das espécies .....</i>	<i>68</i>
<i>4.2.2 Teste do micronúcleo e avaliação da qualidade da água do rio Doce .....</i>	<i>70</i>
<i>4.2.3 Determinação de elementos químicos nos peixes .....</i>	<i>75</i>
<i>4.2.4 Ingestão diária de elementos químicos e avaliação de risco .....</i>	<i>81</i>
<b>4.3 Determinação de elementos químicos na lama em Governador Valadares .....</b>	<b>82</b>
<b>4.4 Biomonitoramento humano .....</b>	<b>86</b>
<i>4.4.1 Determinação dos elementos químicos no sangue total, soro e urina .....</i>	<i>86</i>
<i>4.4.2 Sexo e faixa etária .....</i>	<i>99</i>
<i>4.4.3 Influência da idade, consumo de álcool, cigarro e peixe .....</i>	<i>103</i>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>109</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>109</b>
<b>APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) .....</b>	<b>127</b>
<b>APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) .....</b>	<b>131</b>
<b>APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) .....</b>	<b>133</b>
<b>APÊNDICE D - QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO PRELIMINAR DA POPULAÇÃO EXPOSTA E NÃO EXPOSTA AO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO .....</b>	<b>135</b>
<b>ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP .....</b>	<b>137</b>
<b>ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEUA .....</b>	<b>139</b>
<b>ANEXO C – CARTA DE AUTORIZAÇÃO DA SMS AIMORÉS .....</b>	<b>141</b>
<b>ANEXO D – CARTA DE AUTORIZAÇÃO DA SMS GOVERNADOR VALADARES .....</b>	<b>143</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A bacia hidrográfica do rio Doce conta com 225 municípios, sendo 25 no Espírito Santo e 200 no Estado de Minas Gerais, com uma população em torno de 3,6 milhões de habitantes (ANA, 2016).

No dia 5 de novembro de 2015 houve o rompimento da barragem de Fundão, referente ao complexo minerário de Germano, em Mariana (MG) que possuía cerca de 50 milhões m<sup>3</sup> de rejeitos. O resultado deste rompimento levou 34 milhões m<sup>3</sup> de rejeitos aos rios, afetou 45 municípios e tornou-se o maior desastre ambiental da história do Brasil (IBAMA, 2015).

O distrito de Bento Rodrigues foi o primeiro a ser afetado pelos rejeitos, que depois alcançaram o rio Gualaxo do Norte que, por sua vez, desagua no rio do Carmo na cidade de Barra Longa. Este alcança as águas do rio Piranga, formando o Rio Doce, na cidade de Rio Doce. Os rejeitos continuaram seu fluxo pelo rio Doce, atingindo sua foz, no distrito de Regência, município de Linhares (ES), em 21 de novembro de 2015, totalizando 663,2 km de corpos hídricos diretamente impactados (IBAMA, 2015)

O nível elevado de turbidez da água do rio Doce, decorrente do rompimento da barragem, pode afetar as condições de reprodução da ictiofauna (LOPES, 2016). O relatório do IBAMA (2015) sugere que muitos peixes morreram devido à obstrução das brânquias com o aumento de sólidos em suspensão, devido à elevadíssima turbidez. Com isso, os peixes foram asfixiados, pois não conseguiram fazer as trocas gasosas.

A força do volume de rejeitos também pode ter revolvido e colocado novamente em suspensão os sedimentos de fundo dos cursos d'água afetados, que pelo histórico de uso e relatos na literatura já continha metais tóxicos (MINASGERAIS, 2016).

As análises da qualidade da água no rio Doce, região de Minas Gerais, ao longo de duas décadas, demonstraram que existia contaminação por alguns elementos químicos, mas que foi potencializada no período imediato após o rompimento da barragem, principalmente em relação a alguns elementos como alumínio (Al), ferro (Fe), manganês (Mn) e arsênio (As). Partes destes elementos provavelmente foram incorporadas nos ciclos biológicos aquáticos pelos processos de bioacumulação e biomagnificação, que tem o homem no topo desta cadeia trófica (DIAS *et al.*, 2018). Quanto maior a disponibilidade, maior será o potencial tóxico e a bioacumulação da substância (OGA; CARVALHO; BATISTUZZO, 2014). Em altas concentrações no meio aquático, os metais demonstram

alto poder acumulativo na biota (ATLI; CANLI, 2010). Os peixes se destacam, pois absorvem tanto os metais essenciais, como não essenciais, a partir da água e pela ingestão de alimento, retendo-os em seu tecido muscular (JABEEN; JAVED; AZMAT, 2012; PEREIRA *et al.*, 2010). Por serem um importante recurso protéico e fazerem parte da alimentação humana, os peixes representam uma das principais fontes de ingestão de metais via cadeia alimentar. No entanto, para entender o potencial risco para a ictiofauna e seus consumidores na região, é necessário determinar a concentração dos elementos químicos nos peixes e no meio em que estes vivem (BURGER *et al.*, 2002; YI; ZHANG, 2012).

Várias cidades de Minas Gerais sofreram com os danos causados pelo rompimento da barragem de Fundão, dentre elas Governador Valadares e Aimorés, sendo que esta última faz divisa com o Estado do Espírito Santo (MINASGERAIS, 2016). Ambas as áreas são povoadas por ribeirinhos que consomem peixes do rio Doce mesmo após o desastre, ainda que se preocupem com o risco de contaminação e com a qualidade da água.

No final de janeiro de 2020, houve chuva intensa em Governador Valadares causando enchente na cidade e assustando a população que pela primeira vez percebeu que a lama proveniente da enchente estava densa, viscosa, com sinais visíveis de minério. Este material ocupou ruas e casas em 14 bairros da cidade deixando várias famílias desalojadas (ANGÊNCIABRASIL, 2020). O possível contato com esta lama preocupou toda a população valadarense, uma vez que a lama e a poeira formadas poderiam causar algum problema de saúde (GLOBOG1, 2020).

A escolha das áreas a serem estudadas levou em consideração características das populações locais de Ilha das Pimentas (Governador Valadares) e Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés). Além disso, são poucas ou até ausentes as investigações científicas a respeito dos estudos toxicológicos pós-desastre nessas regiões. A deficiente literatura a respeito da avaliação toxicológica nesses relevantes arranjos acaba por comprometer o conhecimento acerca dos agentes químicos presentes, impedindo avaliações ou considerações acerca da toxicidade existente.

A exposição às substâncias químicas pode causar tanto efeitos tóxicos quanto alterações no estado de saúde das pessoas que vivem ou tem proximidade com ambientes dessa natureza, de forma que é crescente a preocupação com as populações expostas (FERREIRA; WERMELINGER, 2013; FLORES; YAMAGUCHI, 2008).

O risco à saúde humana é considerado através da existência de elementos tóxicos, aumentada pela quantidade total do elemento, a biodisponibilidade e a sua toxicidade (BROWN; FOSTER; OSTERGREN, 1999). O biomonitoramento humano através da análise de elementos químicos no sangue e na urina é útil para estimar a exposição aos poluentes e a contaminação de grupos populacionais (ANGERER; EWERS; WILHELM, 2007).

O presente trabalho tem como objetivos avaliar o risco de exposição à saúde humana através da determinação das concentrações de metais na água, na lama e nos peixes do rio Doce, e realizar o estudo de biomonitoramento humano da população das localidades de Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) e Ilha das Pimentas (Governador Valadares), por meio da análise de sangue e urina.

Para isso, foram determinadas as concentrações de elementos químicos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) na água, nas brânquias e tecido muscular dos peixes do rio Doce no período de seca e chuva das localidades de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas; determinadas as estimativas de ingestão diária dos elementos químicos presentes no tecido muscular dos peixes; avaliados as frequências de micronúcleos e anormalidades nucleares em eritrócitos dos peixes capturados no rio Doce no período de seca e chuva; determinadas as concentrações de elementos (Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) na água e lama de Governador Valadares após a enchente; realizado o estudo de biomonitoramento humano nas localidades de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas através da determinação da concentração de elementos essenciais (Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Se, Zn) e tóxicos (Al, As, Ba, Cd, Hg, Ni e Pb) em amostras de sangue, soro e urina dos voluntários da pesquisa; e caracterizado o ambiente e a população através da aplicação de questionário (idade, sexo, nível de escolaridade; localidade e tempo em que reside; sinais, sintomas e doenças após o desastre; consumo de água, peixes, cigarro e álcool; uso de produtos químicos).



## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Bacia hidrográfica do rio Doce**

A bacia hidrográfica do rio Doce possui uma extensão de 879 km e área de drenagem de 86.715 quilômetros quadrados, sendo que 86% estão no leste mineiro e 14% no nordeste do Espírito Santo. Anteriormente, uma das principais atividades econômicas, era a extração de ouro, o que influenciou a ocupação da região (CBH-DOCE, 2016).

Nos dias de hoje, a atividade econômica é diversificada, tanto do ponto de vista ambiental como socioeconômico e cultural. Os grandes investimentos de capital são na área de mineração, siderurgia, celulose e geração de energia elétrica. Ao longo do curso do rio Doce a atividade predominante é a agrícola, como cultura de café, cana de açúcar, criação de gado de corte e leiteiro (CBH-DOCE, 2016). Mas também existem diversas cidades e regiões industriais importantes, como é o caso do Vale do Aço mineiro. Neste contexto a bacia do rio Doce se insere em uma preocupação sobre a contaminação por metais e seus efeitos na degradação ambiental e impactos na saúde humana (ESPINDOLA *et al.*, 2016; ESPINDOLA; GUERRA, 2017).

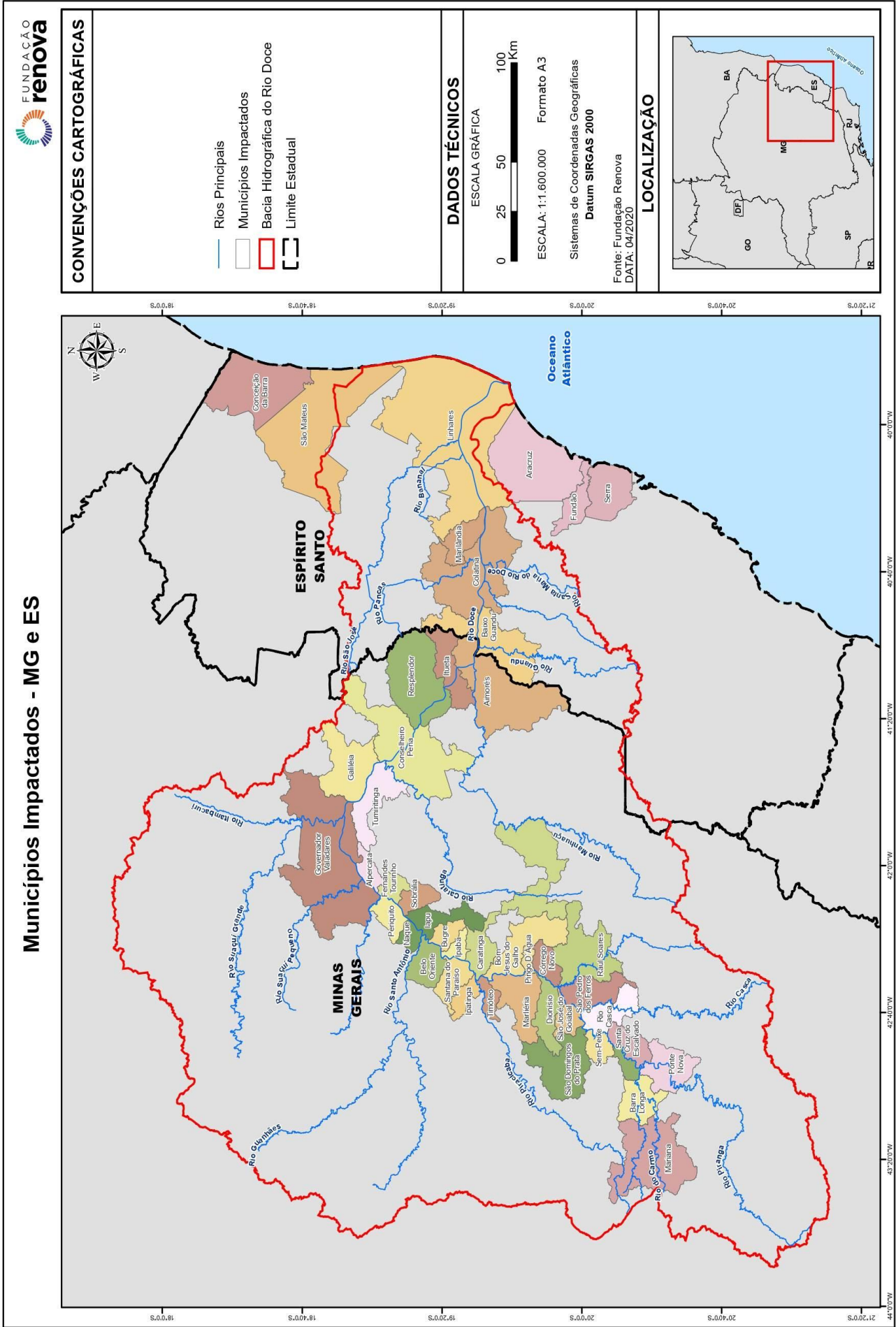
Além da exploração de minério de ferro, a região é marcada pela forte presença de garimpo de ouro desenvolvido ao longo de séculos, e, embora grande parte esteja desativada, a atividade ainda é observada no rio do Carmo, no qual foi atingido pelo rompimento na barragem de Fundão (IBAMA, 2015).

Na atualidade, a bacia é importante por fornecer água para uso doméstico e geração de energia elétrica. Além disso, os rios da região são canais receptores e transportadores de rejeitos e efluentes (CBH-DOCE, 2016).

### **2.2 Rompimento da barragem de Fundão**

Uma das atividades de mineração no Brasil é a extração de minério de ferro, principalmente em Minas Gerais e Pará (IBGE., 2018), onde a Vale S.A. é considerada a mineradora de ferro mais importante no Brasil, ocupando o primeiro lugar na exploração mundial de minério de ferro (VALE, 2020). Em 05 de novembro de 2015, com o rompimento da barragem de Fundão, 34 milhões m<sup>3</sup> de rejeitos de mineração de ferro foram lançados no meio ambiente e afetaram 45 municípios (FIG. 1), naquele que se tornou o maior desastre ambiental da história do Brasil (IBAMA, 2015).

Figura 1 – Municípios atingidos pelo rompimento da Barragem de Fundão



Fonte: Renova (2020).



Os efeitos negativos se estenderam pelos 663,2 km dos rios Gualaxo do Norte, Carmo e Doce, até chegar às águas costeiras do Estado do Espírito Santo. O desastre implicou na destruição das povoações de Bento Rodrigues, casas soterradas pela lama em Gesteira e Paracatu de Baixo e na morte de 19 pessoas. Mais de 1.200 pessoas ficaram desabrigadas; pelo menos 1.469 hectares de terras ficaram destruídos, dentre as quais áreas de preservação permanente, incluindo o Parque Estadual do Rio Doce (ESPINDOLA *et al.*, 2016). Além disso, os moradores tiveram suas principais fontes de subsistência afetadas por conta da água e solo contaminados. Foram prejudicados pescadores, produtores agrícolas, indígenas, quilombolas e outros (MILANEZ; LOSEKANN, 2016).

A onda de lama de rejeitos soterrou centenas de nascentes, contaminou importantes rios, destruiu florestas inteiras e causou prejuízos sociais e econômicos à população, como diminuição do turismo, destruição do patrimônio histórico-cultural, paisagístico e arqueológico, diminuição da economia local e impacto sob os povos indígenas e comunidades tradicionais (LOPES, 2016). Houve assoreamento do leito dos rios, destruição de vegetação e contaminação da água. A perda do habitat comprometeu toda estrutura e função do ecossistema, causando a morte de mamíferos, anfíbios e animais de pequeno porte logo nos primeiros dias do desastre. Das 80 espécies de peixes nativas, 11 estão classificadas como ameaçadas de extinção (IBAMA, 2015).

O rompimento de barragens de um modo geral tem causado vários danos ambientais, sociais e econômicos. Afeta as comunidades locais com a diminuição do rendimento, perda temporária ou permanente do trabalho, habitação e subsistência; o meio ambiente com alterações nas características das águas, físicas e químicas da biota, contaminação das terras, comportamento das espécies; e afeta também a companhia responsável por perda de trabalho e valor de ações, responsabilidade civil/criminal e outros (ROCHE; THYGESEN; BAKER, 2017).

Em Minas Gerais, os desastres com barragens de mineração se sucedem: no ano de 1986 em Itabirito pelo Grupo Itaminas, morreram sete pessoas; 2001 em Nova Lima pela Mineração Rio Verde morreram cinco pessoas; 2006 e 2007 em Mirai pela Mineradora Rio Pomba Cataguases; 2008 em Congonhas pela Mina Casa de Pedra operada pela Companhia Siderúrgica Nacional; 2008 em Itabira em uma mina de ouro; 2014 em Itabirito pela Herculano Mineração, morreram 3 pessoas (MILANEZ; LOSEKANN, 2016); 2015 em Mariana pela Samarco Mineração morreram 19 pessoas; e 2019 em Brumadinho pela Vale S.A. morreram 259 pessoas e 11 pessoas permanecem

desaparecidas até o momento. Vale ressaltar que os rompimentos acima elencados trazem como consequência a contaminação e assoreamento de rios e córregos, degradação da flora e fauna, contaminação do solo, além de potencial causador de fatalidades humanas.

Após o rompimento da barragem de Fundão, a qualidade das águas do rio Doce sofreu alteração em diversos parâmetros monitorados, como turbidez, cor, sólidos em suspensão totais, sólidos dissolvidos totais, condutividade elétrica, Fe dissolvido, Mn total, Al dissolvido, As total, cobre (Cu) dissolvido, níquel (Ni) total, cromo (Cr) total, cádmio (Cd) total e chumbo (Pb) total (SEMAD-IGAM, 2018). De acordo com o SEMAD-IGAM (2016), no trecho de Governador Valadares à Aimorés os limites máximos atingidos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) entre novembro/2015 e outubro/2016 foram: As total 0,0363; Cd total 0,0346; Pb total 0,4420; Cu dissolvido 0,0157; Cr total 0,3200; mercúrio (Hg) total 0,5290; Ni total 0,2500; zinco (Zn) total 0,574 e sólidos totais dissolvidos 2.110. Todos esses resultados violaram o limite de classe 2, de acordo com a Resolução Conama n° 357 (2005).

Vale ressaltar que a ressuspensão do material de fundo, devido ao deslocamento da pluma do rejeito, pode ter disponibilizado para a coluna d'água esse material depositado ao longo de anos no leito do rio, podendo refletir nas violações de classe desses metais (IGAM, 2015).

Os metais são constituintes naturais do meio ambiente, já que estão presentes em numerosos minerais e rochas. Por isso, a concentração destes metais nas águas superficiais depende de vários fatores, como por exemplo, a composição química dos solos, das rochas e das reações químicas. Muitos elementos são pouco solúveis na água e permanecem aderidos aos sólidos. E esta solubilidade depende do valor do potencial hidrogeniônico (pH), temperatura e do potencial de oxirredução do meio, visto que a diminuição do pH da água pode proporcionar a solubilização destes metais, tornando-os biodisponíveis. Porém, de acordo com os resultados da qualidade da água bruta entre 07 de novembro a 20 novembro de 2015, o pH não apresentou variação, o que é um fator positivo para a não dissolução desses metais na água (IGAM, 2015).

Antes do rompimento da barragem, estudos demonstraram elevadas concentrações de elementos químicos em alguns rios pertencentes à bacia do rio Doce, ultrapassando o limite preconizado pela Resolução Conama n° 357 (2005). O arsênio foi encontrado com concentração mais elevada no rio do Carmo, em Mariana, que pode ser consequência da mineração e da fábrica de óxido de arsênio que funcionou por décadas, aderindo-se às margens de riachos ou lançados diretamente nas drenagens contaminando

solo e água da região (BORBA; FIGUEIREDO; MATSCHULLAT, 2003; VAREJÃO *et al.*, 2011). Além do As, também foram encontradas concentrações elevadas de Mn (6 mg L<sup>-1</sup>) no rio do Carmo e Fe (0,5 mg L<sup>-1</sup>) no rio Gualaxo do Norte (BORBA; FIGUEIREDO; MATSCHULLAT, 2003).

O encarte especial sobre a qualidade das águas após quatro anos do rompimento do SEMAD-IGAM (2019) apresenta resultados de janeiro/2016 até o 1º semestre/2019 para diversos parâmetros na água e em sedimentos. Observou-se que o ano de 2016 foi o de maior impacto, devido aos efeitos imediatos da passagem da pluma de rejeitos. No ano de 2017 houve uma redução gradual dos valores de quase todos os parâmetros, e em 2018 e no primeiro semestre de 2019 observou-se uma redução dos percentuais dos parâmetros em todos os trechos avaliados. A maioria das violações foi registrada no período chuvoso para os períodos avaliados (SEMAD-IGAM, 2019).

Alterações físico-químicas da água pelo Fe, Mn e metais tóxicos, apresentavam riscos consideráveis de contaminação porque não se degradam e permanecem solubilizados nas águas ou precipitados como sedimentos de fundo. O material sedimentado nas margens dos rios acarretou, também, problemas de abastecimento de água, tanto para fins de produção, quanto para consumo humano e animal (MINASGERAIS, 2016).

Em Governador Valadares, houve interrupção na captação de água pelo serviço de abastecimento de água do SAAE (Serviço Autônomo de Água e Esgoto) entre os dias 9 a 15 de novembro de 2015, uma vez que o sistema dependia integralmente desse rio. Com esta interrupção, a população só tinha acesso à água previamente estocada, aumentando a procura por água mineral e caminhões-pipa.

Além disso, Governador Valadares apresentou durante os anos de 2013 a 2017 um aumento em sua população total e também um aumento na população atendida com água tratada pelo sistema de abastecimento SAAE. Porém, após o desastre, parte da população tem buscado por fontes alternativas de água para consumo humano, devido à insegurança da qualidade da água do rio Doce, mesmo após seu tratamento, percebendo uma diminuição do consumo de água tratada de 2013 (128,81 litros de água/dia por habitante) em relação a 2017 (104,88 litros de água/dia por habitante) (DE MATOS; LOPES; DA COSTA, 2020).

No distrito de Santo Antônio do Rio Doce em Aimorés, houve interrupção na captação de água do rio Doce pelo serviço de abastecimento de água do SAAE a partir do dia 15 de novembro de 2015, e até o momento não houve o retorno da captação.

Atualmente a água tratada do distrito é transportada da Estação de Tratamento de Água (ETA) de Aimorés para a ETA Santo Antônio do Rio Doce, na qual é distribuída para a população.

De acordo com o estudo de Matos *et al.* (2020), a qualidade da água tratada na saída de tratamento das ETAs de Governador Valadares e Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) entre os anos de 2015 a 2019 teve resultados insatisfatórios para os parâmetros coliformes totais e turbidez. Além disso, foram verificados resultados insatisfatórios pontuais como Al, Fe, Mn, em Governador Valadares; e ausência de cloro residual livre, em Santo Antônio do Rio Doce. Considerando-se o período de quatro anos após o rompimento, os resultados sugerem eficiência do tratamento.

O rejeito de uma mineração é o restante do processamento, sendo composto por minério de ferro, areia e água que é armazenado em barragens. Este rejeito não é tóxico corrosivo ou inflamável. A empresa Samarco produz dois tipos de rejeito: arenoso e lama (SAMARCO, 2019). Então o rejeito de mineração é o que sobra quando se usa água para separar o minério de ferro do material que não tem valor comercial.

Dessa forma, a lama é formada por uma fração líquida e sólida. A fração sólida são os minerais presentes no ambiente, geralmente apresenta baixa toxicidade, e a parte líquida pode conter quantidades de elementos químicos tóxicos dissolvidos na água (ARISTIMUNHO; BERTOCINI, 2012).

Segura *et al.* (2016) realizaram bioensaios toxicológicos no distrito de Bento Rodrigues, cidade de Mariana, nas amostras de solo e lama de rejeitos, em que descobriram que apesar da composição química da lama estar de acordo com a avaliação feita anteriormente, alguns parâmetros como bioensaios toxicológicos revelaram potencial citotóxico e dano ao DNA, sugerindo que novos estudos devem ser realizados visando o monitoramento da área afetada como parte das questões de avaliação de riscos e planejamento de ações de remediação.

Nos estudos de Schaefer *et al.* (2016), a lama é quimicamente pobre e suas propriedades físicas impedem a recuperação ambiental das localidades afetadas, devido ao intenso selamento superficial do solo com a formação de crostas de areia fina com baixo potencial de troca catiônica e condição eletropositiva.

A poluição dos sistemas aquáticos por metais tóxicos é um fator que afeta tanto a qualidade do ambiente quanto constitui um risco eminente de intoxicação ao homem (MUNIZ; FILHO, 2006).

### 2.3 Biomonitoramento humano

O biomonitoramento humano exerce um papel fundamental na saúde ambiental, bem como oferece à avaliação da exposição aos poluentes e à contaminação de grupos populacionais (RAFIEE *et al.*, 2020). A vantagem é o registro da contaminação real de um organismo, mesmo vindo de diferentes fontes de absorção (pele, boca, vias respiratórias), através das medições químicas em matrizes biológicas como, por exemplo, sangue, urina, cabelo, unha (ANGERER; EWERS; WILHELM, 2007). Essas medições biológicas podem oferecer informações essenciais sobre os mecanismos toxicológicos do agente, além de serem úteis para estimar as concentrações de exposição recentes ou crônicas que têm baixa variabilidade ao longo do tempo (AHRENS; PIGEOT, 2014).

A toxicidade de um elemento químico depende, além da sua concentração, do nível de exposição e do período que o indivíduo ficou exposto (PARSONS; BARBOSA JR, 2007). A partir deste contexto, as fontes de exposição são diversas como, por exemplo, a água, os alimentos, o ar e as superfícies. Além disso, deve-se levar em consideração os locais em que o indivíduo percorre e a suscetibilidade individual relativa as características fisiológicas e genéticas, pois podem afetar a dose interna medida no tecido ou fluido humano (AHRENS; PIGEOT, 2014).

Os valores obtidos nas análises sanguíneas representam a concentração do elemento que está em contato direto com diversos tecidos e órgãos do organismo. Pode haver mudanças nas concentrações dos elementos químicos pelo organismo e o ambiente, já que, por exemplo, o volume sanguíneo médio dos adultos continua relativamente constante em uma pessoa saudável (GUYTON; HALL, 2015) e no caso de crianças, que possuem o volume de sangue menor do que os adultos teriam maiores concentrações sanguíneas após a exposição e absorção da mesma porção, além delas ingerirem maiores quantidades proporcionalmente ao seu peso (BARR *et al.*, 2005).

A urina é também amplamente usada no biomonitoramento, especialmente para produtos químicos não persistentes (meia-vida biológica curta), como alguns pesticidas, metais e medicamentos. Uma das principais vantagens do uso de urina é a facilidade de coleta, ser um método não invasivo e economicamente viável, além de ser a principal forma de excreção da maioria dos elementos químicos. As concentrações de creatinina urinária é um método comum para ajustar a diluição já que fatores como hidratação e diurese podem interferir nos resultados, além disso, determinar se uma amostra de urina é

válida para avaliar exposições químicas. O método mais amplamente usado é o ajuste de creatinina que envolve a divisão da concentração do analito ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) pela concentração de creatinina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) (BARR *et al.*, 2005).

Ao realizar um biomonitoramento em indivíduos, os valores empregados para comparação podem ser tanto os valores de limites toleráveis como os valores de referência (VR) (KUMMROW *et al.*, 2008). O VR é um valor oriundo de várias pesquisas populacionais onde estabelece a concentração do analito de interesse em matrizes biológicas com base na análise estatística dos valores medidos. Serve para detectar indivíduos com nível de exposição ambiental aumentada (EWERS *et al.*, 1999). Como exemplos no mundo, temos dois amplos programas de biomonitoramento: na Alemanha (German Environmental Survey - GerES) ; e nos Estados Unidos (National Health and Nutrition Examination Survey - NHANES) que faz parte dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention ou CDC) (KUMMROW *et al.*, 2008).

Diversos estudos utilizam urina, sangue, cabelo e/ou unha para avaliar exposição a metais tóxicos. Nos estudos de Wegner *et al.* (2000) realizados na Alemanha, constatou-se por meio de análises de urina que garimpeiros de áreas de extração de águas marinhas e esmeraldas estão expostos a metais carcinogênicos como o Al, Cr, Ni, e Pb. Cheyns *et al.* (2014), por sua vez, buscaram averiguar o nível de exposição humana e ambiental ao cobalto (Co), na África, por meio de análises de poeira, solo e urina.

Na pesquisa de Steckling *et al.* (2011) realizada na Mongólia foram analisadas amostras de sangue, urina e cabelo dos moradores das áreas contaminadas pela atividade minerária, tanto da população residente como dos garimpeiros durante o trabalho. Como resultado, acharam que a carga corporal resultante do uso de Hg na mineração de ouro artesanal é alta não apenas nos próprios mineradores, mas também foi encontrado um aumento no risco de mercúrio para os habitantes das áreas de mineração que não estavam ativamente envolvidos na mineração.

No Brasil existem pesquisas científicas que avaliam a exposição aos elementos químicos através de estudos transversais, como descritos na Tabela 1.

Estudos que avaliam a exposição destes elementos após rompimento de barragens de rejeitos minerários são escassos na literatura. Daí a importância do biomonitoramento humano realizado neste trabalho, bem como do biomonitoramento ambiental conforme discutiremos na seção a seguir.

**Tabela 1 – Pesquisas que avaliam a exposição aos elementos químicos no sangue, soro e urina**

Local avaliado	Elemento químico	Matriz biológica	Referência
Bauru, São Paulo.	Pb	Sangue	(MONTENEGRO <i>et al.</i> , 2006)
São Paulo, São Paulo.	Cd e Pb	Sangue	(KUMMROW <i>et al.</i> , 2008)
13 comunidades situadas nas margens do Tapajó, Amazônia brasileira, Pará.	Cu, Co, Rb, Sr e Zn	Sangue	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2009)
Estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Pará e Rio Grande do Sul.	As, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Se	Sangue	(NUNES <i>et al.</i> , 2010)
São Paulo, São Paulo.	Cd, Hg, Pb	Sangue	(KUNO <i>et al.</i> , 2013)
Rio Branco, Acre.	Pb	Sangue	(FREIRE <i>et al.</i> , 2014)
Rio Branco, Acre.	As, Cd e Mn	Sangue	(FREIRE <i>et al.</i> , 2015)
Região Amazônia (São Chico e Creporizinho), Pará.	Hg	Sangue, urina	(CASTILHOS <i>et al.</i> , 2015)
Maringá, Paraná.	As, Cr, Co, Cu, Mn, Ni e Zn.	Soro, urina	(ROCHA <i>et al.</i> , 2016b)
Região Amazônia (Lago Araipa, Nova Estrela, São Tomé), Pará.	Cu, Mn, Se e Zn	Sangue	(VALENTINI <i>et al.</i> , 2016)
São Paulo, São Paulo.	Cd e Pb.	Sangue	(KIRA <i>et al.</i> , 2016)
São Paulo, São Paulo.	As, Cd, Cu, Mn, Hg e Pb.	Sangue	(TAKEDA <i>et al.</i> , 2017)
Aceguá, Bagé, Herval, Hulha Negra, Pedras Altas, Pinheiro Machado e Candiota, Rio Grande do Sul.	Cd, Fe, Pb, Se e Zn	Urina	(DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2018)
São Paulo e Pará.	Al, Ba, Be, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Se e U.	Urina	(BATISTA <i>et al.</i> , 2009c)

## 2.4 Biomonitoramento ambiental

O biomonitoramento ambiental é o uso sistemático das respostas de organismos vivos, seja ele como um todo ou, através de determinado tecido, que ajuda a avaliar o dano causado não apenas à integridade físico-química do ambiente, mas a resposta dos organismos a mudanças ambientais decorrentes da poluição ambiental (SILVA *et al.*, 2016). Os bioindicadores são utilizados como respostas biológicas para mudanças repentinas no ambiente e em condições em longo prazo, sendo utilizados organismos como os animais, plantas, bactérias e fungos. E destes bioindicadores, os peixes são os mais favoráveis para o monitoramento da poluição em ecossistemas aquáticos, pois têm longa vida útil, se desenvolvem e vivem na água, permitindo o

monitoramento contínuo de poluentes e a integração espacial simultânea de dados de poluentes, além de serem relativamente fáceis de amostrar (RAMSDORF *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2016).

Os peixes são comumente utilizados como sentinelas devido ao seu papel na dieta humana, seu potencial de bioacumulação de substâncias genotóxicas, assim como a sua sensibilidade a baixas concentrações de agentes mutagênicos (DEUTSCHMANN *et al.*, 2016). Alguns metais tóxicos apresentam estes potenciais (MATSUMOTO *et al.*, 2006), que em suspensão na água e presentes em alimentos podem ser absorvidos por troca iônica através das membranas lipofílicas, como as brânquias, e por adsorção de elementos em tecidos e superfícies de membrana. Os peixes por serem uma importante fonte proteica e um componente fundamental na dieta humana representam umas das principais fontes de exposição a metais para o homem (LIMA *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos de contaminação por metais utilizando peixes enfocou a acumulação em tecidos moles, como fígado, rim, brânquias e/ou músculos. O músculo é comumente analisado para determinar as concentrações de contaminantes e para avaliar os riscos à saúde, pois é o principal tecido de peixe consumido por humanos (GUÉRIN *et al.*, 2011). No entanto, órgãos ativamente envolvidos no metabolismo, incluindo tecidos branquiais, hepáticos e renais, são conhecidos por acumularem maiores quantidades de metais além do músculo (ZUBCOV *et al.*, 2012).

Os organismos que estão no topo da cadeia alimentar são comumente utilizados por possuírem intrínseca relação com toda a cadeia inferior, assinalando respostas de efeitos crônicos, acumulativos e persistentes no nível de cadeia (LINS *et al.*, 2010). Assim o poluente genotóxico pode afetar toda a cadeia alimentar aquática (DEUTSCHMANN *et al.*, 2016). Enquanto os efeitos genotóxicos podem ser transitórios, os efeitos mutagênicos são persistentes. A mutagenicidade é uma alteração permanente no conteúdo ou na estrutura do material genético de um organismo (DEARFIELD *et al.*, 2002).

No trabalho de Lima *et al.* (2015) foram determinadas as concentrações dos metais na água e no tecido muscular de peixes da bacia do rio Cassiporé no Estado do Amapá, visando avaliar os riscos de contaminação. A coluna d'água apresentou altas concentrações de metais tóxicos em todos os pontos analisados, e presença de cromo e mercúrio nos peixes em concentrações acima dos limites tolerados pela legislação vigente. Os autores sugerem que no decorrer dos anos, os efeitos ambientais e na saúde humana



poderão ser crônicos, com grandes riscos à saúde da população devido ao consumo de peixes e água contaminados.

#### **2.4.1 Micronúcleo**

Uma forma de detectar exposições ambientais mutagênicas, carcinogênicas e instabilidade genômica é o teste de micronúcleo (MN), um biomarcador para avaliar danos no cromossomo. Assim, a utilização do teste de MN nos eritrócitos periféricos tem se tornado recorrente em programas de pesquisas ambientais para determinar alterações genéticas nos organismos em águas contaminadas e misturas complexas (ARSLAN *et al.*, 2015). A grande maioria dos artigos relata uma faixa muito baixa de frequência MN, mas também mostram uma grande variabilidade na frequência da mesma espécie (BOLOGNESI *et al.*, 2006).

Os MN são massas de cromatina citoplasmática, formados quando os fragmentos cromossômicos acêntricos se atrasam durante a anáfase e não se tornam incorporados nos núcleos das células filhas no processo de divisão celular. Após a telófase, os cromossomos sem dano são incluídos no núcleo das células filhas. No entanto, alguns pequenos elementos, não são incluídos nos núcleos formados e permanecem no citoplasma, constituindo as estruturas caracterizadas como micronúcleos (SCHMID, 1975). Assim, diz-se que a presença do micronúcleo na célula é diretamente ligada às aberrações que ocorrem durante a mitose. As alterações genéticas tendem a ser irreversíveis e hereditários, podendo levar a redução na diversidade de espécies do ecossistema impactado (OBIAKOR *et al.*, 2012).

O teste de MN foi inicialmente desenvolvido por Schmid (1975) através de células de medula óssea de camundongos, ratos e hamsters. Hooftman e Raat (1982) adaptaram este teste para aplicação em peixes. Existem vários ensaios de mutagenicidade e este teste tem sido utilizado com sucesso por se tratar de um ensaio simples, rápido, seguro e sensível (MINISSI; CICCOTTI; RIZZONI, 1996). Por isso, o teste tem se mostrado capaz de auxiliar nos estudos de investigações de mutagênese com causas ambientais e mostram potencial no monitoramento da qualidade da água (AL-SABTI; METCALFE, 1995).

A frequência do MN varia dependendo da estação do ano, tipo de poluição e espécies de peixes. Os peixes são os organismos mais valorizados no teste do MN porque é

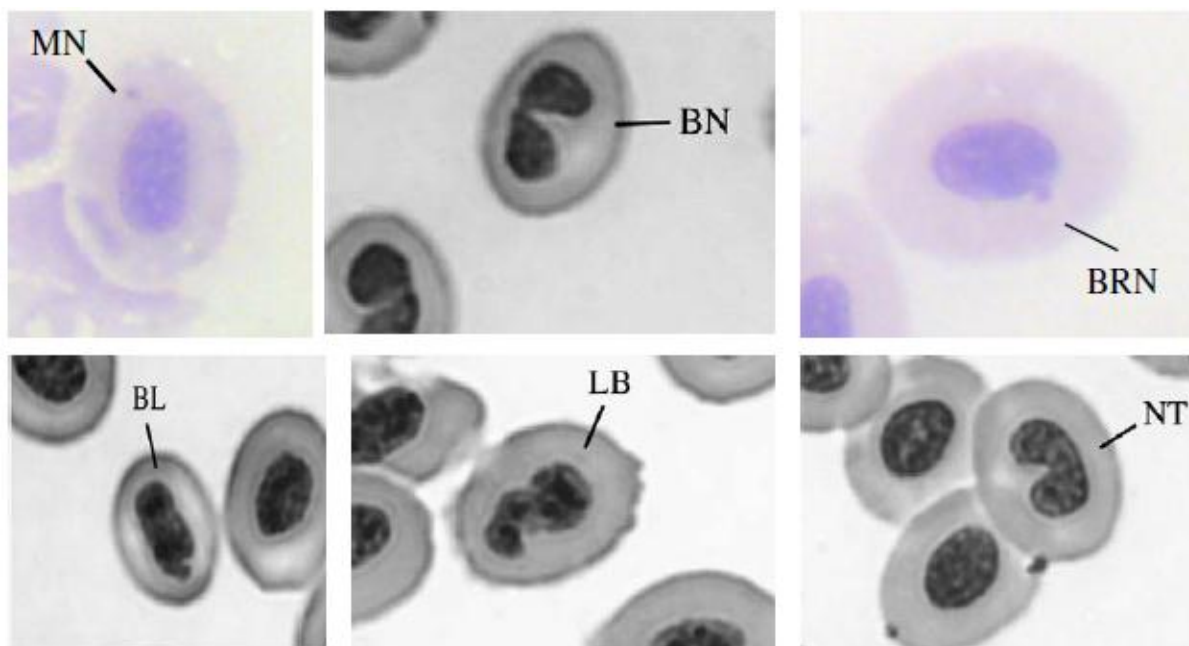
o principal monitor biológico afetado pelas mudanças no ambiente onde os poluentes são descarregados, uma vez que ficam expostos a substâncias químicas muito diversas, seja diretamente via água ou indiretamente via cadeia alimentar no ecossistema (ARSLAN *et al.*, 2015).

São considerados MN aqueles que estão visivelmente separados do núcleo principal da célula possuindo um tamanho que corresponde de 1/5 a 1/20 do tamanho deste núcleo e que não ultrapassem em 1/3 o tamanho do núcleo principal. Além disso, devem possuir bordas e a mesma refração do núcleo principal. No caso de peixes, devido ao tamanho normalmente reduzido dos cromossomos, esta proporção passa para 1/10 a 1/30 do tamanho do núcleo original (AL-SABTI; METCALFE, 1995; GUSTAVINO *et al.*, 2001).

Durante as análises de MN, alguns pesquisadores observaram a existência de outras anormalidades nucleares (AN), sugerindo que estas devam ser reportadas em seus resultados (FENECH *et al.*, 1999). Essas AN relacionam-se aos erros que ocorrem durante a mitose ou meiose, com os processos de morte celular além da própria genotoxicidade e mutagenicidade (FENECH, 2000).

As AN podem ser classificadas segundo Carrasco; Tilbury; Myers (1990) como “blebbed”, “lobed”, “notched” e “vacuolated”. Núcleos “blebbed” apresentam uma pequena invaginação da membrana nuclear e da cromatina; os “lobed” apresentam uma invaginação maior da membrana e da cromatina, formando lobos; o núcleo “notched” apresenta um corte bem definido em sua forma, geralmente com uma profundidade apreciável no núcleo e ainda lacunas que não contém cromatina; o “vacuolated” apresenta uma região que lembra os vacúolos no seu interior, que se mostram destituídos de qualquer material nuclear visível no seu interior. Fenech (2000) adicionou a técnica descrevendo “binúcleo” como mais uma alteração morfológica (FIG. 2).

**Figura 2 – Anormalidades nucleares e micronúcleos em eritrócitos de peixes**



Fonte: Jiraungkoorskul *et al.*, (2008). MN: Micronúcleo; BN: Eritrócito binucleado; BRN: Broto nuclear; BL: Núcleo “blebbed”; LB: Núcleo “lobed”; NT: Núcleo “notched”.

Um aspecto que necessita de uma padronização é o escore do número celular suficiente para este teste. O número de células analisadas por lâmina varia muito, alguns autores leem 1.000 células (AYLLON; GARCIA-VAZQUEZ, 2000; OSMAN *et al.*, 2010), outros 2.000 células (ÇAVAS; ERGENE-GÖZÜKARA, 2005; LEMOS *et al.*, 2008); e outros leem 4.000 células (BOLOGNESI *et al.*, 2006; FERRARO *et al.*, 2004). Ficou evidenciado que quanto maior o número contabilizado melhor é a caracterização das frequências de cada alteração das células. A baixa frequência basal de MN representa a principal limitação para o teste aplicado nos eritrócitos de peixes, exigindo a pontuação de um grande número de células a partir de um número consistente (BOLOGNESI *et al.*, 2006).

Estudos nessa área são importantes, porque os peixes servem de alimento e alternativa de renda para a população em diversas regiões do país, além de serem fonte de proteína, minerais, elementos essenciais e ômega-3. Não obstante, o consumo de peixe contaminado pode causar riscos à saúde humana devido aos metais tóxicos presentes (SILVA *et al.*, 2016).

## 2.5 Avaliação de risco à saúde humana

A dieta alimentar é a fonte de todos os elementos necessários ao metabolismo animal. Dentre estes elementos estão incluídos metais essenciais como Cu, Fe e Zn. Porém, quando estes estão presentes nos alimentos em concentrações elevadas, podem ser absorvidos e acumular-se nos tecidos. A toxicidade de qualquer composto está diretamente relacionada à dose, ao tempo de exposição, à forma física e química dos elementos, da via de administração e da absorção (OMS, 1998).

Vários metais são reconhecidos como tóxicos, como As, Cd, Hg, e a maioria destes metais não desempenha nenhuma função conhecida no organismo. A ingestão de alimentos contaminados é a via de introdução mais importante para a maior parte dos compostos tóxicos no organismo, excluindo-se as comunidades expostas ocupacionalmente ou habitantes de áreas reconhecidamente contaminadas (OMS, 1998).

A avaliação de risco à saúde humana determina a relação entre a exposição de elementos e seus efeitos adversos, mediante técnicas específicas, visando à promoção e proteção da saúde, controle e prevenção da exposição de populações. É dividida em quatro momentos: identificação do perigo, avaliação dose-resposta, avaliação da exposição, caracterização do risco (FREITAS, 2002).

Através do monitoramento ambiental é avaliado o grau de exposição da concentração de uma substância química presente no ambiente e o monitoramento biológico é avaliado a exposição no organismo. Estes dados são quantificados e comparados com os valores de referências (PIVETTA *et al.*, 2001). As rotas de exposição comuns podem ser por ingestão, inalação e absorção através da pele (MOREIRA; MOREIRA, 2004).

No monitoramento biológico é medida e quantificada uma concentração de elementos químicos em vários meios biológicos, como cabelo, leite materno, sangue, urina, fezes. Este pode fornecer dados sobre exposições ocorridas anteriormente, visto que muitos metais ficam no organismo por certo tempo após a exposição, quanto dados de exposição recente (PIVETTA *et al.*, 2001).

Uma exposição prolongada aos metais tóxicos pode ser nociva à saúde humana, principalmente porque alguns metais, além de serem facilmente absorvidos pelo organismo, não são facilmente excretados, se acumulando em órgãos e tecidos. Com o tempo, podem causar alterações celulares e conseqüentemente causar mutações de caráter

benéfico ou maléfico. Isso tudo depende do grau, quantidade e tempo de exposição ao metal (GOYER; CLARKSON, 1996).

O Pb e seus compostos podem atingir diversos órgãos e sistemas, sendo que os efeitos neurológicos sobre o desenvolvimento parecem ser os mais críticos. A exposição excessiva e prolongada pode causar doença renal progressiva e irreversível. Além disso, esse metal produz efeitos no sistema nervoso, afeta a síntese da heme, o sistema hematopoético, a homeostase do cálcio, causa encefalopatia levando a disfunções psicológicas e neurocomportamentais. As crianças são mais susceptíveis aos efeitos do Pb por razões neurológicas, metabólicas e comportamentais. Nos adultos pode causar neuropatia periférica e nefropatia crônica (GOYER; CLARKSON, 1996; MOREIRA; MOREIRA, 2004).

O As e seus compostos afetam muito a pele, com surgimento de lesões múltiplas, podendo provocar graves patologias cutâneas, como hiperpigmentação e hiperqueratose (HAQUE *et al.*, 2003; SHANNON; STRAYER, 1989). A ingestão aguda de altas concentrações de As (inorgânico) pode afetar o sistema nervoso central e periférico (RATNAIKE, 2003). Quanto à exposição crônica em longo prazo (10 a 20 anos) podem surgir efeitos carcinogênicos como câncer de pele, pulmão (inalação), próstata, bexiga, rim e fígado (WHO., 2001). O grau de toxicidade do As depende basicamente da forma do composto (se inorgânico ou orgânico) e do estado de oxidação do elemento. Geralmente, os compostos inorgânicos do arsênio são considerados mais tóxicos do que os orgânicos, e, entre estas, duas classes, as formas trivalentes As (III) são mais tóxicas do que as formas pentavalentes As (V) (SOUZA *et al.*, 2015a).

O Hg e seus compostos, principalmente os compostos orgânicos (metilmercúrio, dimetilmercúrio e fenilmercúrio) podem provocar diversos problemas à saúde humana, como efeitos sobre o sistema nervoso, renal, reprodutor, imunológico, cardiovascular, atividade motora e efeitos genotóxicos. Esses efeitos tóxicos variam de acordo com a forma de ocorrência e exposição (CARDOSO *et al.*, 2001; OGA; CARVALHO; BATISTUZZO, 2014).

Já outros metais, dentre os quais Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Se e Zn são essenciais para manutenção dos sistemas biológicos. Porém, quando em grandes quantidades, podem ser prejudiciais à saúde, se absorvidos acima dos limites toleráveis para o funcionamento normal dos seres vivos (ROCHA, 2009).

## 2.6 Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado

Várias são as técnicas atualmente disponíveis para a determinação de elementos, seja para amostras de alimento, sangue, urina, cabelo, unha, tecido e outros. A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), espectrometria de emissão ótica com plasma (ICP OES) e espectrometria de absorção atômica (AAS) são alguns exemplos dos equipamentos mais utilizados para análise dos metais. Nos últimos anos, houve uma demanda crescente por técnicas analíticas que permitem a determinação de metais de forma rápida, precisa e sensível (AGUIAR, 2017).

O ICP-MS surgiu na década de 80 e seu uso tem crescido devido ao fato de possuir alto poder de detecção para a maioria dos elementos, por ser uma técnica exata, precisa e rápida, com alta sensibilidade em traços e ultra traços de concentração em diferentes matrizes de amostras, eficiência, alta velocidade de análise, possibilitando a determinação multielementar e isotópica com a utilização de pouco volume da amostra (LEWEN *et al.*, 2004; RAO; TALLURI, 2007; STOVING *et al.*, 2013).

Essa sensibilidade da técnica permite utilizar soluções de amostras menos concentradas, eliminando assim a necessidade de grandes tamanhos de amostra, minimizando os efeitos potenciais que a amostra matriz pode ter no resultado (SHAW *et al.*, 2012). Por outro lado, o espectrômetro de massas é complexo e de custo relativamente alto, o que limita uma maior difusão da técnica em trabalhos de rotina, além das interferências isobáricas nos resultados (FRESCHI *et al.*, 2000).

O espectrômetro de massas é composto por cinco partes principais: sistema de introdução de amostra, sistema de fonte de íons, interface, sistema analisador de massa e sistema de detecção de íons. No analisador, os íons são separados de acordo com sua razão massa/carga na qual um registro é obtido, o espectro de massas, apresentando os tipos de íons e suas quantidades relativas (SUTTON; SUTTON; CARUSO, 1997; THOMAS, 1999)

O ICP-MS é versátil e utilizado na identificação de elementos presentes em diversas amostras, em área da bioquímica, forense, biologia, indústrias de alimento, ciências geológicas, ambientais, combustíveis e aplicações na área da saúde, tanto análises qualitativas e quantitativas (DA SILVA; FRESCURA; CURTIUS, 2001).

Como o ICP-MS consegue analisar simultaneamente vários elementos químicos em concentrações inferiores a  $1\mu\text{g L}^{-1}$  e os fluidos biológicos podem atingir estas baixas concentrações, muitos elementos químicos essenciais ou tóxicos podem ser detectados e quantificados com a utilização deste equipamento (BARBOSA JR *et al.*, 2005).

O preparo de amostras é uma etapa crítica que proporciona grande impacto sobre os resultados finais das análises, principalmente para manter a integridade das espécies químicas. Dessa forma, diferentes estratégias são utilizadas para análise de tecido, sangue, urina e unha, tais como: diluição de amostras em ácido nítrico de alta pureza e peróxido de hidrogênio; diluição em meio ácido e digestão em forno micro-ondas; amônia, Triton X-100 e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA); diluição com uso de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH); digestão úmida em vasos abertos ou fechados e outros (BATISTA, 2012).

O padrão interno é adicionado em concentração constante em todas as amostras para possibilitar a correção de interferências de carga espacial e flutuações instrumentais que afetem a repetibilidade da medida dos sinais analíticos. Deverá estar presente em baixas concentrações ou mesmo não estar presente na amostra. Além disso, não deve sofrer e nem causar interferências. No caso, em ICP-MS são usados padrões internos que privilegiam elementos que sejam monoisotópicos e que tenham massas atômicas próximas as massas atômicas dos analitos. Como exemplo de uso tem-se o ródio (Rh), irídio (Ir) e ítrio (Y) (SARTOROS; SALIN, 1999).

Algumas amostras são insolúveis na água e neste caso, para solubilizar é necessário o uso de soluções ácidas diluídas em águas, como por exemplo, ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), que evitam a precipitação de metais e reduzem a viscosidade da solução, com isso, facilita a introdução da amostra no ICP-MS.  $\text{HNO}_3$  concentrado é o reagente mais utilizado para a decomposição da matriz orgânica, e é preferido para a digestão devido ao seu poder oxidante e disponibilidade em alta pureza (AGUIAR, 2017).

O uso de bases fortes como o TMAH promove a clivagem de proteínas facilitando a solubilização da amostra sem necessidade prévia de decomposição assistida por micro-ondas. Portanto, a solubilização da matriz com TMAH seria uma alternativa à convencional digestão ácida, oferecendo a vantagem de diminuir o risco de perdas por volatilização e menos propenso a contaminação (BATISTA *et al.*, 2008).

Os números de contagens dos analitos no ICP-MS podem se apresentar muito instáveis pela formação de hidróxidos causados pelo pH básico com TMAH. O uso de um agente quelante, EDTA, pode ser adicionado nas amostras para estabilizar os analitos nas soluções básicas (BARANY *et al.*, 1997).

Apesar de vários métodos, não existe uma técnica de preparo de amostra que seja universal. Devem ser observados os elementos a serem determinados, tipo de amostra e as condições da solução final para se ter um melhor resultado.



### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Considerações éticas**

O presente trabalho respeitou os procedimentos éticos no qual foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) por meio da Plataforma Brasil seguindo as orientações da Resolução 466/2012, tendo sido aprovado (Anexo A) sob o protocolo número CAAE: 18940819.1.0000.5108.

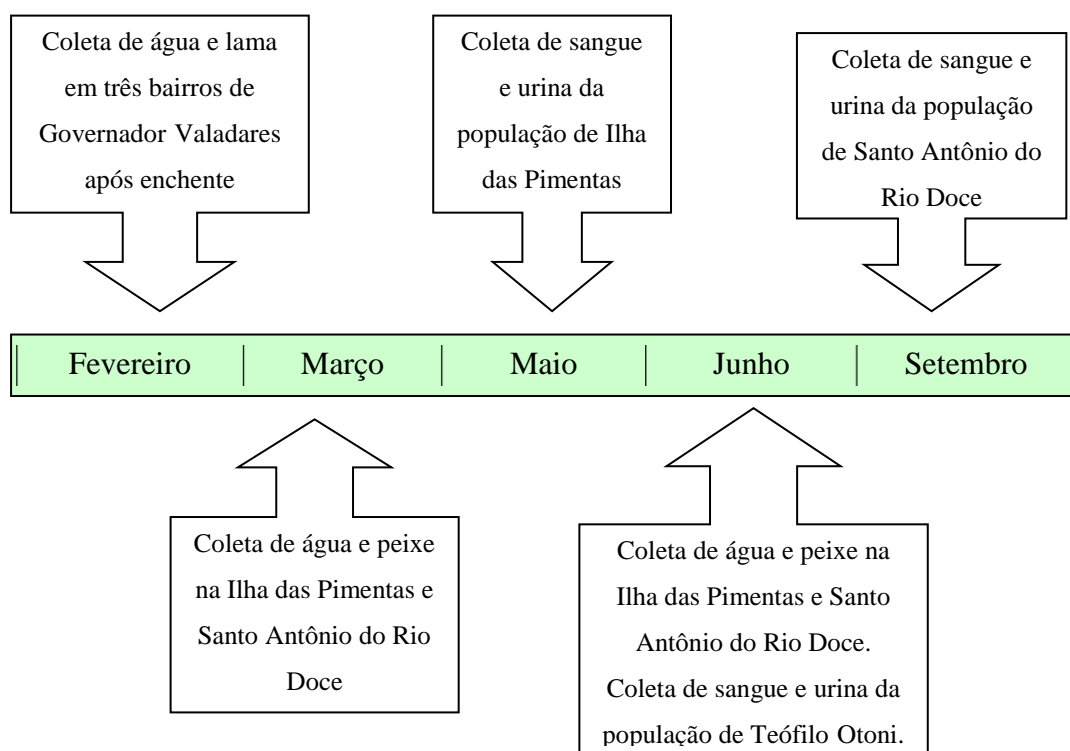
Os resultados obtidos ficaram à disposição dos voluntários, mantidos padrões de sigilo e esclarecida qualquer dúvida relacionada aos procedimentos, riscos, benefícios e quaisquer outras dúvidas que venham a aparecer relacionadas à pesquisa. Todos participaram de forma voluntária assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Esta pesquisa também foi submetida à Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA/UFVJM), na qual foi aprovada (Anexo B) sob o número do parecer 54/2019.

#### **3.2 Desenho do estudo e períodos de coleta**

A pesquisa do estudo é de natureza quantitativa, explicativa em que aborda o estudo longitudinal (período de seca e chuva) para coleta dos peixes e água, e estudo transversal para coleta de sangue e urina da população de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce, assim como a coleta da água e lama após a enchente em Governador Valadares (FIG. 3).

Previamente foi aplicado questionário nas três populações (Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni – grupo controle), cujas respostas foram tabuladas estatisticamente. A seleção dos voluntários foi realizada de forma aleatória no grupo de Santo Antônio do Rio Doce e no grupo controle. Já na região de Ilha das Pimentas foram convidados todos os moradores. Todos os participantes foram adultos (18-59 anos) e residiam nas localidades há pelo menos quatro anos.

**Figura 3 – Linha do tempo das coletas realizadas durante o ano de 2020**

Fonte: Próprio autor.

### 3.3 Caracterização das áreas estudadas

A localidade Ilha das Pimentas pertence ao distrito valadarense de Ilha Brava, que fica a 25 km da sede do município de Governador Valadares. A Ilha das Pimentas é toda banhada pelo rio Doce e o único modo de chegar ao local é atravessando de barco. De acordo com a Estratégia da Saúde da Família (ESF) Baguari, existem 20 moradores, sendo cinco menores de idade (0-18 anos), 14 adultos (18-59 anos) e um idoso (acima de 60 anos). Encontra-se na coordenada geográfica 18°56'18.9"S 42°02'30.3"W. No local foram realizadas as coletas de amostras de água, peixes, sangue e urina.

O mesmo trabalho foi realizado no distrito Santo Antônio do Rio Doce, que está vinculado ao município de Aimorés, na coordenada geográfica 19°30'17.0"S 41°00'53.4"W, cuja distância da sede é de 10 km. De acordo com o IBGE, sua população no ano de 2010 era de 1.513 habitantes, porém de acordo com dados mais recentes da ESF Santo Antônio do Rio Doce são 1.720 habitantes no distrito. Ilha das Pimentas está a montante e Santo Antônio do Rio Doce à jusante do rio Doce, na divisa com o Estado do Espírito Santo. A distância entre os dois locais é de cerca de 180 km.

Já a coleta das amostras de lama foi realizada na região mais central de Governador Valadares, uma vez que no final do mês de janeiro/2020, uma enchente deixou vários bairros centrais alagados e, pela primeira vez, foi possível perceber junto à água uma lama com aspecto de minério (FIG. 4). Vários moradores foram surpreendidos com a chegada da lama em suas residências, o que disseminou o medo de que o material fosse prejudicial à saúde. Mediante este acontecimento, foram coletadas amostras de lama somente desta cidade, visto que no distrito Santo Antônio do Rio Doce não ocorreu enchente neste ano.

**Figura 4 - Lama depositada nas ruas e casas de moradores de Governador Valadares**



Fonte: arquivo pessoal, Governador Valadares, janeiro de 2020.

As Secretarias Municipais de Saúde de Aimorés (Anexo C) e Governador Valadares (Anexo D) autorizaram a realização desta pesquisa e forneceram a infraestrutura

e apoio humano necessários para as coletas de amostras de sangue da população, divulgação da pesquisa e utilização do laboratório para centrifugação das amostras.

### 3.4 Critérios para biomonitoramento humano

Na primeira etapa do estudo foram realizadas visitas que atenderam a diversos interesses, incluindo o conhecimento generalizado da região a ser estudada, além de reuniões com os agentes comunitários de saúde e de endemias que auxiliaram com as informações para o desenvolvimento da pesquisa em questão.

Para definição do número das amostras e no intento de buscar dados primários ao estudo, foi realizado um recorte sobre a população das duas localidades e definida como população de estudo os adultos (18-59 anos) e moradores que residiam nas localidades desde a época do desastre ambiental. Em 2019, Ilha das Pimentas (Governador Valadares) era composta por 14 adultos e Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) por 1.170, conforme os dados fornecidos pelos respectivos ESF. Os 14 adultos da Ilha das Pimentas foram convidados a participar da pesquisa, porém uma família com seis pessoas recusou a participação, totalizando oito pessoas com amostras de sangue e urina coletadas.

Em Santo Antônio do Rio Doce, em razão da dificuldade de incluir em estudos populacionais todos os indivíduos, por questões financeiras, logísticas e éticas, foi utilizado o cálculo amostral para descobrir um número suficiente de pessoas desta população, que, se submetida ao biomonitoramento, forneceria uma estimativa da prevalência da exposição aos elementos químicos na população. Para o cálculo da população amostral ( $n$ ) de Santo Antônio do Rio Doce utilizou-se a fórmula de Anderson, Sweeney e Williamns (2007):

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Onde,

$Z (\alpha/2)$  = valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado (desvio-padrão populacional = 1,96);

$p$  = proporção populacional de indivíduos que pertence a categoria com interesse em estudar;

$q$  = proporção populacional de indivíduos que NÃO pertence à categoria com interesse em estudar ( $q = 1 - p$ );

$n$  = tamanho da população;

$E$  = margem de erro ou erro máximo de estimativa.

Considerando erro amostral de 10% com intervalo de confiança (IC) de 95%, o presente trabalho coletou 100 amostras de sangue e urina da população do distrito de Santo Antônio do Rio Doce.

Dentre os critérios de inclusão dos voluntários foram selecionados aqueles que residem em Ilha das Pimentas ou Santo Antônio do Rio Doce há no mínimo quatro anos, e adultos (18 - 59 anos) de ambos os sexos. Já dentre os critérios de exclusão estão aqueles que não concordarem em participar do estudo ou não assinarem o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (TCLE), que residam menos de quatro anos nas localidades citadas, crianças e idosos.

No grupo 1 estão os voluntários da Ilha das Pimentas e no grupo 2 estão os voluntários de Santo Antônio do Rio Doce. Em ambos os grupos foram aplicados o TCLE (Apêndice A). No grupo 3 estão os voluntários do grupo controle da região da bacia do Rio Mucuri, aos quais foi aplicado o TCLE (Apêndice B). O recrutamento dos voluntários foi realizado com ajuda das Secretarias Municipais de Saúde por meio dos agentes de endemias e agentes de saúde, e do laboratório macrorregional da SRS/Teófilo Otoni.

Do grupo controle foram coletadas 47 amostras de sangue e urina de moradores de Teófilo Otoni e para completar o grupo formado por 50 pessoas, foram utilizados três resultados aleatórios das análises de metais de sangue e urina do grupo controle do estudo de Santos (2018), aprovado pelo CEP/UFVJM protocolo número 1.691.988, cujo coordenador é o mesmo da presente proposta. Estes três participantes do grupo controle foram contatados para conceder autorização do uso de dados prévios através da nova assinatura do TCLE (Apêndice C), da atual pesquisa. Dentre os critérios de inclusão foram selecionados aqueles que residam há pelo menos quatro anos no município da bacia do rio Mucuri, já que é próxima a bacia do rio Doce e não foi exposta ao rompimento da barragem de Fundão e que sejam adultos (18 - 59 anos). Foram excluídos da pesquisa aqueles que não concordaram em participar do estudo ou não assinaram o TCLE, que residam há menos de quatro anos na localidade citada, crianças e idosos.

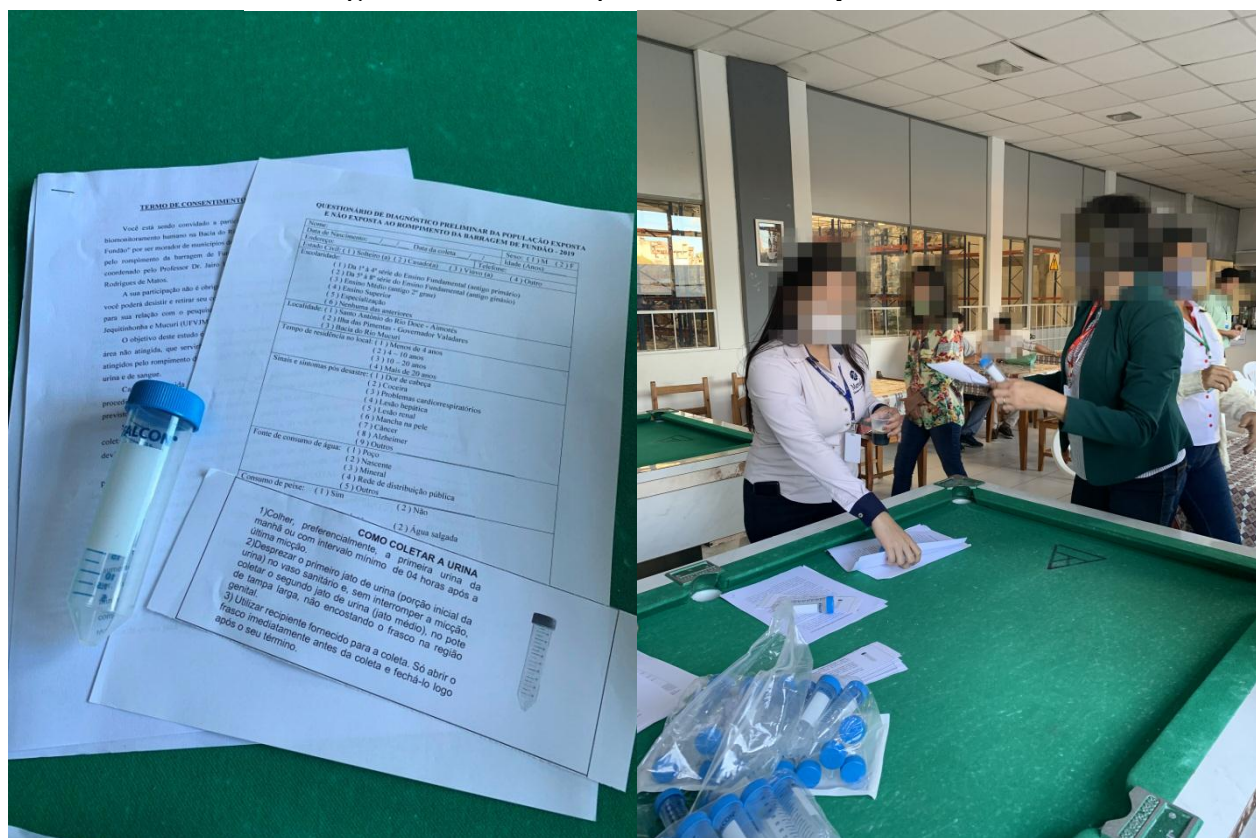
### 3.5 Caracterização do ambiente e da população através da aplicação do questionário

Todos os participantes dos grupos 1, 2 e 3 responderam ao questionário (Apêndice D), que auxilia no entendimento dos resultados da pesquisa. O documento trazia alguns questionamentos como idade, sexo, tempo de moradia na localidade, estilo de vida (consumo de cigarro, álcool e peixe), uma vez que todos esses fatores podem contribuir para a variação na concentração dos elementos químicos e/ou que possam explicar a possível exposição pós-desastre.

O questionário foi elaborado baseando-se em estudos anteriores populacionais que avaliaram características sociodemográficas, exposição aos elementos químicos e alterações sociodemográficas (NUNES *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2009; VORMITTAG; OLIVEIRA; GLERIANO, 2018).

Um dia antes das coletas foram entregues o questionário, o TLCE e o frasco para coleta de urina com seu respectivo passo a passo para o procedimento (FIG. 5). No dia da coleta, a pesquisadora conferiu as respostas para assegurar que as informações fossem padronizadas e respondeu a eventuais dúvidas.

**Figura 5 – Distribuição dos materiais para os voluntários**



Fonte: Próprio autor. Teófilo Otoni, junho de 2020.

### 3.6 Reagentes e soluções

Em todo o trabalho foram utilizados reagentes de elevado grau de pureza, exceto o  $\text{HNO}_3$  (Merk, Brasil), que foi previamente purificado com destilador de quartzo para eliminação de impurezas. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polietileno de alta densidade.

No preparo das soluções foi utilizado água ultrapura (resistividade 18,2  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) obtida em sistema de purificação Thermo Scientific Barnstead Nanopure. As soluções e as amostras foram preparadas no laboratório Multiusuário da UFVJM, Campus Mucuri, na sala limpa classe “1000”. Todos os materiais para preparo das soluções e das amostras passaram por uma limpeza cuidadosa, sendo descontaminados em banho de  $\text{HNO}_3$  10% (v/v) por 48 horas, lavados e enxaguados cinco vezes com água ultrapura e secos em capela de fluxo laminar classe 100 (Thermo Scientific modelo 1386) antes do uso, uma vez que a análise de baixas concentrações de metais em qualquer matriz requer a limpeza do material a ser utilizado tanto no preparo das amostras como do armazenamento das soluções.

Triton X-100 e TMAH foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Ítrio (Y), Irídio (Ir), Ródio (Rh), solução multi-elementar e de Hg ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) foram obtidos na PerkinElmer (Shelton, EUA). Foram preparados padrões de calibração de análise diária para os elementos químicos Al, As, Ba, Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Fe, Ni, Se, Pb e Zn ( $1 - 100 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ ) por meio de diluições em série a partir da solução estoque multi-elementar. Além do preparo do padrão de calibração para Hg ( $0,5- 5 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ ) a partir da solução estoque de Hg.

Para o controle de qualidade das análises foram utilizados materiais de referência: água natural (NIST 1640a Gaithersburg, EUA), urina (NIST 2670a Gaithersburg, EUA), sangue (Seronorm™ Trace Elements Whole Blood  $\text{L}^{-2}$ ), e soro (UTAK Bi 66816).

Estes materiais de referência foram analisados em triplicata para avaliar a exatidão e precisão do equipamento. Os valores encontrados estavam em bom acordo com os valores-alvo (teste  $t$  95% e 99%). Os valores de recuperação variaram entre 73-119% para todos os elementos químicos utilizados nas amostras biológicas.

### 3.7 Preparo da curva de calibração e análise no ICP-MS

Em todas as matrizes analisadas (sangue, soro, urina, água, lama, tecido muscular e branquial) foram determinados linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão e precisão (através de materiais certificados).

O LD e LQ do método (preparo de amostras + determinação elementar) foram calculados a partir da média dos valores de concentração dos brancos analíticos somada com três vezes (LD) ou dez vezes (LQ) o desvio padrão dessas medidas ( $n=6$ ), de acordo com as instruções descritas nos protocolos de validação analítica do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2016). A massa de amostras e volume final dos digeridos também foram levados em consideração no cálculo.

Para os padrões de calibração da análise de sangue foi utilizado sangue base. O diluente é composto de 0,5%  $\text{HNO}_3$  + 0,01% Triton X-100. Foram feitos o branco da curva (9,5 mL diluente com 500  $\mu\text{L}$  sangue base) e o branco da amostra (apenas o diluente).

Para os padrões de calibração da análise do soro e urina foram utilizados os seus respectivos pool. O diluente é composto de 0,4%  $\text{HNO}_3$  + 0,005% Triton X-100. Foram feitos o branco da curva (9,8 mL diluente com 200  $\mu\text{L}$  pool soro/urina) e o branco da amostra (apenas o diluente).

Para os padrões de calibração da análise da lama e água, foram feitos o branco da curva (10 mL diluente 2%  $\text{HNO}_3$ ) e o branco da amostra. E para os padrões de calibração da análise do peixe, foram feitos o branco da curva (1 mL TMAH 50% com 9 mL diluente 0,5%  $\text{HNO}_3$  + 0,01% Triton X-100) e o branco da amostra.

A determinação dos elementos químicos em todas as amostras foi feita em parceria com o Laboratório BioNanos & Metals da Universidade Federal do ABC, onde foram analisadas por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS 7900, Agilent, Hachioji, Japão) equipado com cela de colisão para a minimização de interferências espectrais.

No caso da análise das amostras de água, lama e peixes o padrão interno de Y ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi utilizado durante a análise como forma de avaliar a resposta do equipamento. Além disso, um material de referência certificado de água natural (NIST 1640a) foi analisado em triplicata para avaliar a exatidão e precisão do equipamento. Todas as condições operacionais do equipamento estão apresentadas na Tabela 2.



**Tabela 2 – Condições operacionais do ICP-MS para análise de água, lama, peixes, sangue, soro e urina**

Parâmetro	ICP-MS 7900
Isótopos determinados (modo No Gas) para análise de urina e sangue	$^{59}\text{Co}$ , $^{112}\text{Cd}$ , $^{137}\text{Ba}$ , $^{208}\text{Pb}$
Isótopos determinados (modo No Gas) para análise de soro	$^{59}\text{Co}$ , $^{112}\text{Cd}$
Isótopos determinados (modo He) para análise de água, lama e peixes	$^{27}\text{Al}$ , $^{55}\text{Mn}$ , $^{59}\text{Co}$ , $^{60}\text{Ni}$ , $^{63}\text{Cu}$ , $^{66}\text{Zn}$ , $^{75}\text{As}$ , $^{112}\text{Cd}$ , $^{137}\text{Ba}$ , $^{208}\text{Pb}$
Isótopos determinados (modo He) para análise de urina e sangue	$^{27}\text{Al}$ , $^{52}\text{Cr}$ , $^{55}\text{Mn}$ , $^{56}\text{Fe}$ , $^{60}\text{Ni}$ , $^{63}\text{Cu}$ , $^{66}\text{Zn}$
Isótopos determinados (modo He) para análise de soro	$^{27}\text{Al}$ , $^{52}\text{Cr}$ , $^{55}\text{Mn}$ , $^{56}\text{Fe}$ , $^{60}\text{Ni}$ , $^{63}\text{Cu}$ , $^{66}\text{Zn}$ , $^{137}\text{Ba}$ , $^{208}\text{Pb}$
Isótopos determinados (modo HEHe) para análise de água, lama e peixes	$^{52}\text{Cr}$ , $^{56}\text{Fe}$ , $^{78}\text{Se}$
Isótopos determinados (modo HEHe) para análise de urina, sangue e soro	$^{75}\text{As}$ , $^{78}\text{Se}$ , $^{202}\text{Hg}$
Padrão Interno para análise de água, lama e peixes	$^{89}\text{Y}$ ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ )
Padrão Interno para análise de urina	$^{89}\text{Y}$ e $^{103}\text{Rh}$ ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ )
Padrão Interno para análise de sangue e soro	$^{193}\text{Ir}$ ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ )
Software	MassHunter Workstation
Gás de nebulização (Ar)	$1.06 \text{ L min}^{-1}$
Gás principal (Ar)	$15.0 \text{ L min}^{-1}$
Célula de colisão	Hélio (pureza >99.999 %)
Fluxo de gás na célula de colisão (He)	$5 \text{ mL min}^{-1}$
Fluxo de gás na célula de colisão (HEHe)	$10 \text{ mL min}^{-1}$
Potência de radiofrequência	1550 W
Câmara de nebulização	Scott (double pass)
Nebulizador	Mira Mist
Interface	Cones de Ni
Cone de amostragem	1 mm
Skimmer	0,45 mm
Replicatas	3

As amostras de urina também foram analisadas por ICP-MS equipado com cela de colisão. Foi utilizado como padrão interno o Y e Rh ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Além disso, um

material de referência certificado de urina (NIST 2670a) foi analisado em triplicata para avaliar a exatidão e precisão do equipamento.

As amostras de sangue também utilizaram o mesmo equipamento IPC-MS equipado com cela de colisão, com padrão interno Ir ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e foi utilizado material de referência certificado de sangue (Seronorm™ Trace Elements Whole Blood  $\text{L}^{-2}$ ).

E as amostras de soro foram também analisadas pelo ICP-MS equipado com cela de colisão utilizando o padrão interno de Ir ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Além disso, utilizou material de referência certificado de soro (UTAK Bi 66816).

Os parâmetros analíticos (linearidade, limite de detecção, limite de quantificação) e os isótopos para determinação de Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Zn nas amostras de água, lama, peixes, sangue, soro e urina estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3 – Parâmetros analíticos para determinação quantitativa dos elementos químicos em água, lama, peixe, sangue, soro e urina no ICP-MS**

Elementos químicos	Amostra	LD	LQ	Linearidade
<sup>27</sup> Al	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	1,2614	4,2047	0.9975
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0649	0,2163	0.9975
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	1,1329	3,7764	0.9989
	Soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,1528	7,1761	0.9999
	Urina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,8535	2,8450	0.9995
<sup>75</sup> As	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0211	0,0704	1.0000
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0004	0,0013	1.0000
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0145	0,0483	1.0000
	Sangue ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0229	0,0763	0.9999
	Urina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0103	0,0344	0.9999
<sup>137</sup> Ba	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,2844	0,9479	1.0000
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0202	0,0674	1.0000
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0662	0,0937	0.9994
	Sangue ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,1633	0,5443	1.0000
	Soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,2895	0,9651	1.0000
<sup>112</sup> Cd	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0058	0,0194	1.0000
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0002	0,0007	1.0000
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0044	0,0147	0.9992
	Sangue ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0097	0,0313	1.0000
	Soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0479	0,1144	1.0000
	Urina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0040	0,0134	0.9999

LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

Continuação da Tabela 3.

Elementos químicos	Amostra	LD	LQ	Linearidade
<sup>59</sup> Co	Água (µg L <sup>-1</sup> )	0,0129	0,0431	0.9997
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0001	0,0004	0.9997
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	0,3160	0,8137	0.9990
	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,0064	0,0213	1.0000
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	0,0227	0,0757	0.9998
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,0081	0,0270	0.9997
<sup>63</sup> Cu	Água (µg L <sup>-1</sup> )	0,0415	0,1382	0.9997
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0004	0,0013	0.9997
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0283	0,0944	0.9995
	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,1019	0,3397	0.9992
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	6,7827	22,6090	0.9998
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	7,3676	17,9620	0.9998
<sup>56</sup> Fe	Água (µg L <sup>-1</sup> )	1,6090	5,3634	0.9994
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0352	0,1172	0.9994
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	1,4841	4,9470	0.9954
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	10,1449	33,8162	0.9993
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,7192	2,3975	0.9997
<sup>202</sup> Hg	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,0166	0,0555	0.9999
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,0209	0,0696	0.9997
<sup>55</sup> Mn	Água (µg L <sup>-1</sup> )	0,0514	0,1713	1.0000
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0017	0,0056	1.0000
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	0,7828	2,4042	0.9991
	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,1497	0,4988	1.0000
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	0,0304	0,1013	1.0000
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,0265	0,0885	0.9996
<sup>60</sup> Ni	Água (µg L <sup>-1</sup> )	0,0610	0,2032	0.9999
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0005	0,0018	0.9999
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	0,2079	0,2490	0.9992
	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,1352	0,4421	0.9999
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	0,0744	0,2479	1.0000
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,1050	0,3500	0.9995
<sup>208</sup> Pb	Água (µg L <sup>-1</sup> )	0,1386	0,4621	0.9999
	Lama (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0046	0,0152	0.9999
	Peixe (mg kg <sup>-1</sup> )	0,0571	0,1076	0.9996
	Sangue (µg L <sup>-1</sup> )	0,0415	0,1382	0.9999
	Soro (µg L <sup>-1</sup> )	2,3556	7,8519	0.9998
	Urina (µg L <sup>-1</sup> )	0,0898	0,2994	0.9994

**Continuação da Tabela 3.**

Elementos químicos	Amostra	LD	LQ	Linearidade
<sup>78</sup> Se	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0654	0,2180	1.0000
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0007	0,0023	1.0000
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0038	0,0128	0.9999
	Sangue ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0252	0,0839	0.9997
	Soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,7809	2,6029	0.9999
	Urina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0335	0,1117	0.9996
<sup>66</sup> Zn	Água ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,6537	2,1790	0.9999
	Lama ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,0092	0,0307	0.9999
	Peixe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	0,3098	1,0325	0.9986
	Sangue ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,9621	3,2071	0.9974
	Soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	16,6834	55,6114	0.9997

LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

**3.8 Avaliação biológica humana****3.8.1 Coleta e preparo das amostras****3.8.1.1 Sangue humano**

As amostras de sangue foram coletadas em local reservado, na parte da manhã após jejum de 8h dos voluntários. Foram seguidos os procedimentos realizados por Batista *et al.* (2009b). As coletas na Ilha das Pimentas foram realizadas na casa de cada morador; em Teófilo Otoni foram realizadas no laboratório macrorregional da SRS/Teófilo Otoni e na empresa CERTO Distribuição; e em Santo Antônio do Rio Doce, no Posto de Saúde do distrito (FIG. 6).

Foram coletados 10 mL de sangue utilizando tubos de coleta livres de metais, com o anticoagulante (Vacuette®) e tubo sem aditivo (Vacuette®); luvas de látex sem pó; agulha Becton Dickinson 25 x 8 mm (21 G 1); algodão e álcool 70° GL para a assepsia.

A coleta foi realizada pelos técnicos habilitados das secretarias municipais de saúde, técnicos do laboratório macrorregional da SRS/Teófilo Otoni e pela própria pesquisadora, com a punção da veia após a assepsia com álcool 70° GL. Logo após a coleta, o tubo foi invertido várias vezes para misturar o sangue com o anticoagulante. No caso do tubo sem aditivo foi separado o soro. Todo o material foi encaminhado à UFVJM, Campus Mucuri, numa caixa térmica com gelo reciclável. Os critérios para rejeição do soro e sangue total como inaceitável incluem volume inadequado (<0,5 ml); presença de

coágulos de fibrina; ou potencial contaminação devido a procedimento inadequado de coleta. Posteriormente, o material foi armazenado no freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Thermo Scientific) até análise.

**Figura 6 – Coleta de sangue em Ilha das Pimentas, Teófilo Otoni e Santo Antônio do Rio Doce**



Fonte: Próprio autor. Ilha das Pimentas, maio de 2020; Teófilo Otoni, junho de 2020; Santo Antônio do Rio Doce. Setembro 2020.

As amostras de sangue ( $200\text{ }\mu\text{l}$ ) foram diluídas 1:50 em tubo Falcon® de 15 mL com uma solução diluente contendo 0,5% (v/v) de  $\text{HNO}_3$  e 0,01% (v/v) Triton X-100, de acordo com os procedimentos de Batista *et al.* (2009b). As amostras de soro ( $500\text{ }\mu\text{l}$ ) foram diluídas 1:20 em tubo Falcon® (15 mL) com uma solução diluente contendo 0,4%

(v/v) de  $\text{HNO}_3$  e 0,005% (v/v) Triton X-100, de acordo com os procedimentos de Freire *et al.* (2018). Posteriormente foi realizada análise no ICP-MS.

As amostras de sangue, soro e urina foram utilizadas somente para o desenvolvimento desta pesquisa. As alíquotas restantes foram embaladas em sacos plásticos específicos (materiais biológicos de risco), lacradas e entregues ao Sistema de Coleta de Resíduos Sólidos da Cidade de Teófilo Otoni para incineração.

### 3.8.1.2 Urina

As amostras de urina foram coletadas pelos próprios voluntários da pesquisa e recolhidas pela pesquisadora. Utilizou a primeira urina do dia, desprezando o primeiro jato de urina, a fim de minimizar possíveis interferências oriundas de efeito da dieta, hidratação e diurese (FILLOL *et al.*, 2010). Os tubos de polietileno tipo Falcon<sup>®</sup> (50 mL) foram entregues no dia anterior à coleta e os voluntários foram devidamente orientados quanto ao procedimento dessa coleta. As amostras continham um volume aproximado entre 20 a 40 mL e posteriormente foram acondicionadas em freezer  $-20^\circ\text{C}$ . Depois foram encaminhadas à UFVJM, Campus Mucuri, numa caixa térmica com gelo reciclável e acondicionadas em freezer  $-80^\circ\text{C}$  (Thermo Scientific). Ao total foram coletadas 155 amostras, sendo oito de Ilha das Pimentas, 47 de Teófilo Otoni e 100 de Santo Antônio do Rio Doce. Foram utilizados resultados de três amostras de urina do grupo controle do trabalho de Santos (2018), totalizando 50 amostras do grupo controle.

A determinação dos elementos químicos na urina foi realizada de acordo com o método de Freire *et al.* (2018). Amostras de urina (500  $\mu\text{L}$ ) foram diluída 1:20 em tubos tipo Falcon<sup>®</sup> (15mL) com uma solução contendo 0,4% (v/v)  $\text{HNO}_3$  e 0,005% (v/v) Triton X-100. Posteriormente, as amostras foram analisadas diretamente por ICP-MS.

### 3.8.1.3 Determinação da concentração de creatinina urinária

A determinação da concentração de creatinina urinária é voltada à correção das concentrações de metais na urina, devido aos vários estados de hidratação de cada participante, com diferentes diluições das amostras de urina. Foi utilizado o Kit diagnóstico (CREATININA Labtest ref.: 35), conforme procedimento descrito pelo fabricante (diluição de 1:25 com água ultrapura). As absorbâncias do teste e padrão foram

monitoradas a 510nm por espectrofotômetro digital (modelo UV-M51 da Weblabor). Posteriormente foi realizado o cálculo para ajuste de creatinina, que envolve a divisão da concentração do analito ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) pela concentração de creatinina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) (BARR *et al.*, 2005).

### 3.9 Avaliação dos peixes

#### 3.9.1 Coleta dos peixes do rio Doce e confecção de lâminas

Para a realização deste estudo, foram obtidas amostras de peixes e água no rio Doce das duas localidades, no período de chuva (março/2020) e seca (junho/2020). Os peixes foram capturados pelos pescadores profissionais dos respectivos municípios através do uso de tarrafa, anzol simples e múltiplo. As coordenadas geográficas com os pontos de coleta dos peixes e água está apresentada na Tabela 4 e nas Figuras 7 e 8.

**Tabela 4 – Coordenadas dos pontos de coleta de água e peixe em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce**

Pontos de coleta	Latitude/Longitude
Ilha das Pimentas	18°56'15''S 42°02'31''W -18.937658, -42.042189
Santo Antônio do Rio Doce	19°30'22''S 41°00'25''W -19.506111, -41.006944

**Figura 7 - Mapa da localização da coleta de água e peixe em Ilha das Pimentas**



Fonte: Google Earth, 2020.

**Figura 8- Mapa da localização da coleta água e peixe em Santo Antônio do Rio Doce**

Fonte: Google Earth, 2020.

Após a pesca, os peixes foram anestesiados com eugenol por banho de imersão ( $50 \text{ mg L}^{-1}$  de eugenol, diluído em álcool etílico ( $92,8^\circ$ ), resultando em solução estoque na proporção de  $100 \text{ mg mL}^{-1}$ ) até a perda do equilíbrio. Depois foi coletado cerca de  $1 \text{ mL}$  do sangue do peixe vivo de acordo com os procedimentos de Ishikawa *et al.* (2010). O peixe foi contido adequadamente, com um pano úmido sobre os olhos. Para realização da punção do vaso sanguíneo, a agulha foi inclinada em torno de  $45^\circ$  e realizada a penetração em direção à região ventral da coluna vertebral, local onde se localizam a artéria e a veia caudal (FIG. 9). O ângulo de inserção pode variar de acordo com a anatomia do peixe e seu tamanho. Foi utilizada uma seringa com agulha, banhada em anticoagulante em quantidade mínima apenas para umedecer internamente a agulha e a seringa.

Logo após a coleta do sangue, foi gotejado sobre uma lâmina limpa e realizada a extensão do material com auxílio de uma lâmina de vidro para o teste do micronúcleo. Foram feitos dois esfregaços de lâminas por peixe. Em seguida foi utilizado método físico para finalizar a eutanásia. Foram atendidas todas as condições necessárias para eutanásia de acordo com a Resolução Normativa nº 37 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), Diretriz da Prática de Eutanásia. Em seguida foram colocados em sacos plásticos e etiquetados.

As amostras dos peixes frescos foram medidas para conhecimento do comprimento total, pesadas e identificadas as espécies. Os valores obtidos foram anotados em uma planilha.



**Figura 9 - Barco da pesca; coleta do sangue; confecção de lâminas; medição do peixe**



Fonte: Próprio autor. Fotografado em visita ao local, Governador Valadares e Aimorés.

O material foi congelado e transportado para o freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  (Thermo Scientific) do laboratório Multiusuário da UFVJM, Campus Mucuri. Não teve alteração na alimentação, fonte de água, lotação e exaustão do ar. É importante ressaltar que o material biológico não foi fixado em formol e sim, conservado “in natura” em um freezer.

### **3.9.2 Remoção das brânquias e tecido muscular dos peixes para análise dos elementos químicos**

Após o peixe congelado, foram retiradas as brânquias e pesadas, congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  (Thermo Scientific) e em seguida liofilizadas (liofilizador SL-404 Solab) por 48h para remoção da umidade, conforme método de preparo de Grotto e colaboradores (2012). Foram pesadas cerca de 15 g de cada amostra do tecido muscular dos peixes, congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  (Thermo Scientific) e em seguida liofilizadas (liofilizador SL-404 Solab) por 48h. Posteriormente, todas as amostras de brânquias e tecido muscular foram pesadas novamente e a porcentagem de água foi calculada. Em seguida, as amostras foram moídas e peneiradas e armazenadas em tubos Falcon<sup>®</sup> em local seco.

A análise de elementos químicos por ICP-MS foi realizada de acordo com Batista *et al.* (2009a). As amostras foram pesadas ( $\sim 75$  mg) com precisão em tubos de 15 mL Falcon<sup>®</sup>. Então, 1 mL de TMAH 50% (v/v) foi adicionada às amostras, que foram incubadas em temperatura ambiente por 12h em um homogeneizador rotacional (Thermo Scientific modelo 4360). Após a solubilização, o volume foi ajustado para 10mL com uma solução diluída contendo 0,5% (v/v) de  $\text{HNO}_3$ , 0,01% (v/v) de Triton X-100.

Para determinar a estimativa de ingestão diária dos elementos químicos presentes nos tecidos dos peixes, foi utilizado como referência o trabalho de Grotto *et al* (2012), com a seguinte fórmula:

$$\text{EID} = \text{CE} \times \text{M}$$

Onde,

EID = estimativa de ingestão diária (mg/pessoa/dia);

CE = concentração do elemento químico encontrado ( $\text{mg Kg}^{-1}$ );

M = massa do alimento consumido diariamente ( $\text{Kg dia}^{-1}$ ).

### **3.9.3 Preparação das lâminas e análise microscópica**

Para a realização da contagem dos micronúcleos em hemácias periféricas dos peixes, foi empregada a técnica descrita por Heddle (1973) e Schmid (1975), com algumas modificações. A técnica aplicada consistiu das etapas:

a) As lâminas foram bem limpas e identificadas.

- b) Ao coletar o sangue do peixe, uma gota foi colocada na superfície da lâmina.
- c) Com o auxílio de uma lâmina de vidro, foi feito um esfregaço, espalhando o sangue sobre a superfície da lâmina (técnica de extensões sanguíneas).
- d) Foram confeccionadas duas lâminas por peixe.
- e) As lâminas, após secarem ao ar, foram fixadas em metanol absoluto por 20 minutos.
- f) Foram coradas com Giemsa diluído em tampão Sorensen ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,06M e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,06 M – ph 6,8), na proporção de 1 ml do corante para 20 ml da solução tampão por 20 minutos. Em seguida foram lavadas com água destilada.
- g) Foram analisadas 2.000 células por lâmina, totalizando 4.000 células por peixe, o resultado final é expresso em total de células contendo micronúcleo.

As lâminas foram analisadas utilizando-se microscópio óptico de luz visível, em objetiva de imersão 100x e ocular 10x, aumento final de 1000x. A contagem dos MN é feita seguindo os critérios descritos por Heddle (1973) e Al-Sabti; Metcalfe (1995): são consideradas para contagem apenas hemácias nucleadas com membranas nuclear e citoplasmáticas intactas, não sendo analisadas aquelas que estejam sobrepostas ou danificadas; os MN devem apresentar forma arredonda, estarem no mesmo plano do citoplasma, não apresentar refringência, ter a mesma cor do núcleo principal, estar completamente separado do núcleo principal e, possuírem tamanho de 1/10 a 1/30 do tamanho do núcleo e que não ultrapassem em 1/3 o tamanho do núcleo principal. As anormalidades nucleares foram analisadas segundo critérios de Carrasco; Tilbury; Myers (1990) como “blebbed”, “lobed”, “notched” e “vacuolated” e “binúcleo” por Fenech (2000).

Foram observadas as frequências de eritrócitos portadores de MN calculados a partir da fórmula: número de eritrócitos contendo micronúcleos / número total de células contabilizadas. As frequências das anormalidades nucleares considerando as descritas por Carrasco; Tilbury; Myers (1990), foram calculadas a partir da fórmula: número de eritrócitos contendo anormalidades nucleares / número total de células contabilizadas.

### **3.10 Coleta e análise de elementos químicos em amostras de água e lama**

A água do rio Doce e a lama após a enchente foram coletadas em três pontos diferentes do município de Governador Valadares no dia 09 de fevereiro de 2020 nos

bairros São Paulo (FIG. 10), Ilha dos Araújo (FIG. 11) e São Pedro (FIG. 12) sendo que em cada local foi coletado por amostragem. O mapa contendo as coordenadas geográficas com os pontos de coleta está apresentado na Tabela 5 e Figura 13. Também foram coletadas amostras de água do rio Doce no mesmo dia da coleta dos peixes de ambas as localidades, Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas.

**Figura 10 - Coleta de água e lama no bairro São Paulo**



Fonte: Próprio autor. Governador Valadares, 09 de fevereiro de 2020.

**Figura 11 - Coleta de água e lama no bairro Ilha dos Araújo**



Fonte: Próprio autor. Governador Valadares, 09 de fevereiro de 2020.

**Figura 12 - Coleta de água e lama no bairro São Pedro**

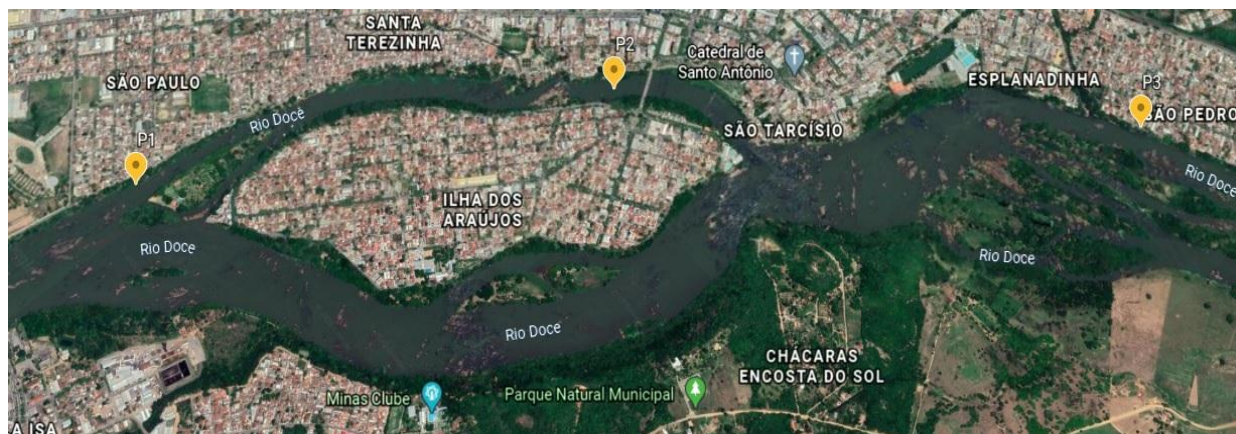


Fonte: Próprio autor. Governador Valadares, 09 de fevereiro de 2020.

**Tabela 5 - Coordenadas dos pontos de coleta de água e lama em Governador Valadares**

Pontos de coleta	Latitude/Longitude
P1 - bairro São Paulo	18°52'38''S 41°57'09''W -18.877222, -41.952500
P2 - bairro Ilha dos Araújos	18°51'42''S 41°56'37''W -18.861667, -41.943611
P3 - bairro São Pedro	18°50'52''S 41°55'45''W -18.847778, -41.929167

**Figura 13 - Mapa com os três pontos das coletas de água e lama em Governador Valadares**



Fonte: Google Earth, 2020.

As amostras de água (n=7) foram realizadas em triplicata de cada um dos pontos. Foram utilizados frascos plásticos estéreis e feito o ambiente antes da coleta. Os frascos foram mergulhados rapidamente com a boca para baixo, a cerca de 20 cm abaixo da lâmina d'água. Após os frascos serem retirados do corpo d'água foram fechados imediatamente para evitar alteração das suas propriedades originais. Todas as amostras foram acondicionadas em recipiente térmico preservadas com gelo e enviadas para o laboratório da UFVJM, Campus Teófilo Otoni. Para determinação dos elementos químicos, foi utilizado o método analítico proposto por Lawrence *et al.* (2006) com modificações, utilizando ICP-MS. Para diluição foi utilizado 1 mL de amostra de água coletada e completado a 9 mL de HNO<sub>3</sub> 2% (v/v) em tubos livres de metal.

A coleta da lama (n=3) foi realizada por amostragem através da escavação da lama na profundidade de 0 a 20 cm, com retirada em vários locais dentro do mesmo ponto de coleta. Em seguida, foi coletado aproximadamente 1000g de cada amostra de lama e armazenada em saco plástico descontaminado. As amostras foram secas em estufa (Thermo Scientific) com temperatura de 50°C por aproximadamente 48h. Em seguida, foi feita a maceração utilizando gral e pistilo previamente descontaminados e posteriormente as amostras foram peneiradas (<1 mm). Em seguida, cerca de 0,5 g de cada amostra foram submetidas à extração ácida (10mL de HNO<sub>3</sub>) assistida por micro-ondas CEM modelo MARS 6, conforme método 3051A, da Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (USEPA, 2007). Após a digestão ácida, foi utilizado 0,01 mL do sobrenadante e diluído 1000 vezes com HNO<sub>3</sub> 2% (v/v) para determinação por ICP-MS.

### **3.11 Análise estatística**

Os dados da água, lama, peixe, sangue total, soro e urina foram tabulados em planilha do Microsoft Excel 2016 e posteriormente transportados para o software SPSS 19 (Statistical Package for the Social Sciences). Para a análise estatística descritiva, foram calculadas as médias, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo, percentis 90 e 95 das concentrações dos elementos químicos. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição da normalidade da amostra.

Uma vez que as amostras de peixes apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste *t* de Student para comparar as médias dos percentuais de MN das espécies de acordo com a sazonalidade e cidade.

O teste U de Mann-Whitney foi usado para comparar as medianas das concentrações dos elementos químicos nos peixes, sangue total, soro, urina, por sexo e por grupo caso e controle.

O teste de Kruskal-Wallis foi realizado entre a concentração de elementos químicos no sangue total, soro e urina x região (Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas, Teófilo Otoni) e por faixa etária.

Foram feitas correlações com teste de Spearman entre as concentrações dos elementos químicos com: tamanho dos peixes; peso dos peixes; idade dos voluntários; consumo de cigarro; bebida alcoólica; e consumo de peixe.

Por fim, foi realizada a regressão logística bivariada do consumo do cigarro e bebida alcoólica com o consumo do peixe. As variáveis foram incluídas quando o  $p < 0,1$  e mantidas se  $p < 0,05$ .

Para todos os testes utilizados o nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .





## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do ambiente e da população através da aplicação do questionário

#### 4.1.1 Características sociodemográficas das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni

O estudo integra 108 participantes que vivem em localidades afetadas pelo rompimento da barragem de Fundão, e 50 participantes que residem em Teófilo Otoni para compor o grupo controle. As variáveis sociodemográficas das populações encontram-se sumarizadas na Tabela 6.

**Tabela 6 – Caracterização sociodemográfica da população de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni**

		Santo Antônio do Rio Doce	Ilha das Pimentas	Teófilo Otoni
<b>Sexo</b>	<b>Feminino</b>	39 (39,0%)	4 (50,0%)	24 (48,0%)
	<b>Masculino</b>	61 (61,0%)	4 (50,0%)	26 (52,0%)
<b>Idade (anos)</b> (média±DP)		41,2 ± 11,5	37,2 ± 15,5	39,9 ± 11,2
<b>Estado civil</b>	<b>Solteiro (a)</b>	19 (19,0%)	5 (62,5%)	21 (42,0%)
	<b>Casado (a)</b>	69 (69,0%)	2 (25,0%)	26 (52,0%)
	<b>Viúvo (a)</b>	1 (1,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)
	<b>Separado (a)</b>	11 (11,0%)	1 (12,5%)	2 (4,0%)
<b>Escolaridade</b>	<b>1ª à 4ª série</b>	19 (19,0%)	3 (37,5%)	0 (0,0%)
	<b>5ª à 8ª série</b>	27 (27,0%)	3 (37,5%)	5 (22,2%)
	<b>Ensino Médio</b>	37 (37,0%)	2 (25,0%)	20 (40,0%)
	<b>Ensino Superior</b>	14 (14,0%)	0 (0,0%)	18 (36,0%)
	<b>Especialização</b>	3 (3,0%)	0 (0,0%)	7 (14,0%)
<b>Tabagismo</b>	<b>Sim</b>	8 (8,0%)	4 (50,0%)	1 (2,0%)
	<b>Não</b>	92 (92,0%)	4 (50,0%)	49 (98,0%)
<b>Etilismo</b>	<b>Sim</b>	3 (3,0%)	1 (12,5%)	1 (2,0%)
	<b>Não</b>	97 (97,0%)	7 (87,5%)	49 (98,0%)
<b>Uso produto químico</b> (inseticida/ praguicida)	<b>Sim</b>	7 (7,0%)	0 (0,0%)	3 (6,0%)
	<b>Não</b>	93 (93,0%)		47 (94,0%)

DP: desvio-padrão

A maior parte da população de Santo Antônio do Rio Doce que participou da pesquisa é casada, do sexo masculino e possui ensino médio. Já na Ilha das Pimentas, foi entrevistado o mesmo número de pessoas do sexo masculino e feminino; porém, a maioria é solteira e estudou o ensino fundamental parcialmente ou integralmente. Grande parte dos participantes não fuma, não ingere bebida alcoólica ou utiliza produto químico, exceto em Ilha das Pimentas que quatro (50%) participantes fumam. O uso do produto químico relatado pelos participantes não era relacionado ao trabalho, mas ao uso de inseticida/praguicida em casa.

#### ***4.1.2 Sinais e sintomas das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas após o rompimento da barragem de Fundão***

Os principais sinais e sintomas presentes nas populações estudadas encontram-se descritos na Tabela 7. Dos participantes de Santo Antônio do Rio Doce, coceira foi a maior porcentagem; já em Ilha das Pimentas foi a dor de cabeça. Os outros sintomas constatados incluem depressão, ansiedade, diarreia e insônia.

**Tabela 7 – Sinais e sintomas presentes na população de Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas após o rompimento da barragem de Fundão**

	<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	<b>Ilha das Pimentas</b>
<b>Dor de cabeça</b>	21 (21,0%)	5 (62,5%)
<b>Coceira</b>	22 (22,0%)	2 (25,0%)
<b>Problemas cardiorrespiratórios</b>	4 (4,0%)	0 (0,0%)
<b>Lesão renal</b>	3 (3,0%)	1 (12,5%)
<b>Mancha na pele</b>	6 (6,0%)	0 (0,0%)
<b>Outros</b>	9 (9,0%)	3 (37,5%)

Outros estudos realizados com populações impactadas com o rompimento da barragem de Fundão, como em Barra Longa em Minas Gerais (VORMITTAG; OLIVEIRA; GLERIANO, 2018), e em Regência, Areal, Entre Rios, Povoação e Campo Grande no Espírito Santo (PAULELLI, 2019), também observaram acometimentos na pele incluindo coceira, mancha na pele, alergias; acometimentos psicológicos como depressão, dor de cabeça, ansiedade, insônia; sintomas gastrointestinais e respiratórios. Também foi

realizado um estudo em Colatina no Espírito Santo (ROCHA *et al.*, 2016a) voltado para sintomas após o uso da água, onde foi possível constatar um aumento considerável da população que teve sintomas de diarreia e febre no decorrer da passagem da lama pela cidade.

#### 4.1.3 Consumo de água e peixes das comunidades de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni

O perfil de consumo da água e de peixes das populações analisadas encontra-se sumarizado na Tabela 8.

**Tabela 8 – Consumo de água e peixes na população de Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni**

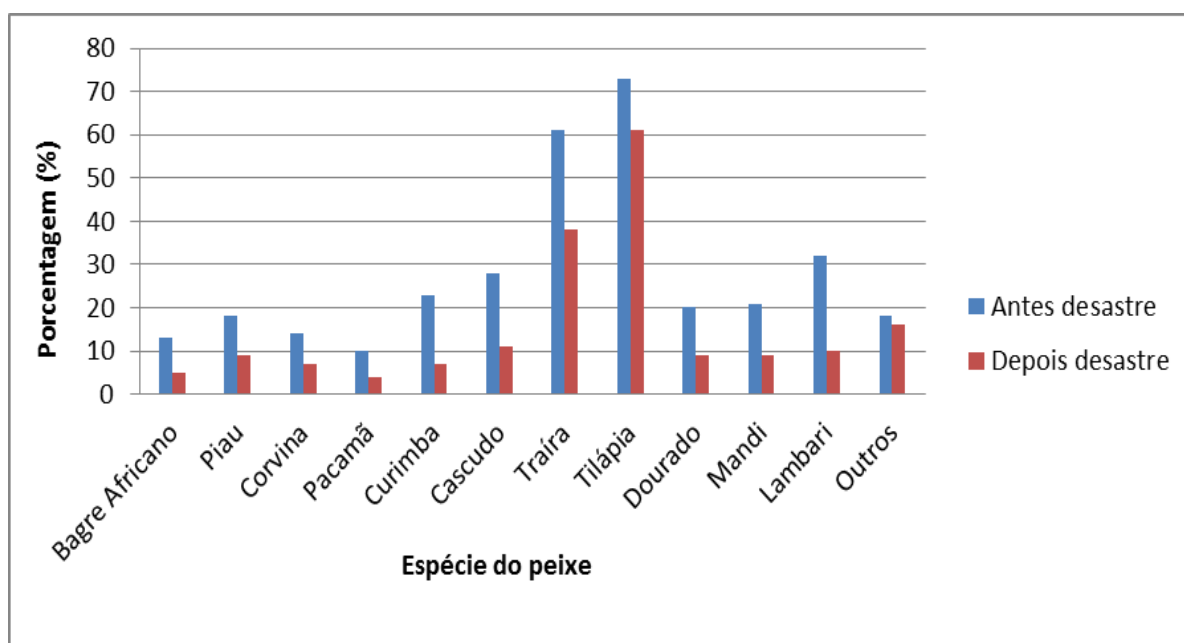
		Santo Antônio do Rio Doce	Ilha das Pimentas	Teófilo Otoni
<b>Consumo de água</b>	<b>Poço</b>	0 (0,0%)	8 (100,0%)	3 (6,0%)
	<b>Nascente</b>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)
	<b>Mineral</b>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	9 (18,0%)
	<b>Rede pública</b>	90 (90,0%)	0 (0,0%)	35 (70,0%)
	<b>Nascente + pública</b>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)
	<b>Mineral + pública</b>	10 (10,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)
<b>Consumo de peixe</b>	<b>Sim</b>	71 (71,0%)	8 (100,0%)	42 (84,0%)
	<b>Não</b>	29 (29,0%)	0 (0,0%)	8 (16,0%)
<b>Tipo de peixe</b>	<b>Água doce</b>	66 (92,9%)	8 (100,0%)	18 (42,8%)
	<b>Água salgada</b>	3 (4,1%)	0 (0,0%)	11 (26,1%)
	<b>Água doce + salgada</b>	2 (3,0%)	0 (0,0%)	13 (31,1%)
<b>Fonte do peixe</b>	<b>Rio Doce</b>	29 (40,8%)	8 (100,0%)	0 (0,0%)
	<b>Rio Corrente</b>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (4,8%)
	<b>Rio Manhuaçu</b>	6 (8,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	<b>Rio Doce + Rio Manhuaçu</b>	18 (25,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	<b>Não sabe</b>	8 (11,2%)	0 (0,0%)	31 (73,8%)
	<b>Outros</b>	10 (14,3%)	0 (0,0%)	9 (21,4%)
<b>Frequência de consumo do peixe</b>	<b>Sem consumo de peixe</b>	29 (29,0%)	0 (0,0%)	8 (16,0%)
	<b>&lt; 2 refeições/semana</b>	55 (55,0%)	5 (62,5%)	30 (60,0%)
	<b>2-4 refeições/semana</b>	8 (8,0%)	2 (25,0%)	2 (4,0%)
	<b>&gt;4 refeições/semana</b>	1 (1,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	<b>Consumo desconhecido</b>	7 (7,0%)	1 (12,5%)	10 (20,0%)

Em Santo Antônio do Rio Doce todos consomem água tratada do serviço de abastecimento de água (SAAE) captado no rio Manhuaçu. Entre os anos de 2015 e 2019 a qualidade dessa água apresentou resultados insatisfatórios pontuais apenas para os parâmetros coliformes totais, turbidez e cloro residual livre (DE MATOS *et al.*, 2020). Na Ilha das Pimentas cada morador tem seu próprio poço raso ou profundo, sem nenhum tipo de tratamento de água.

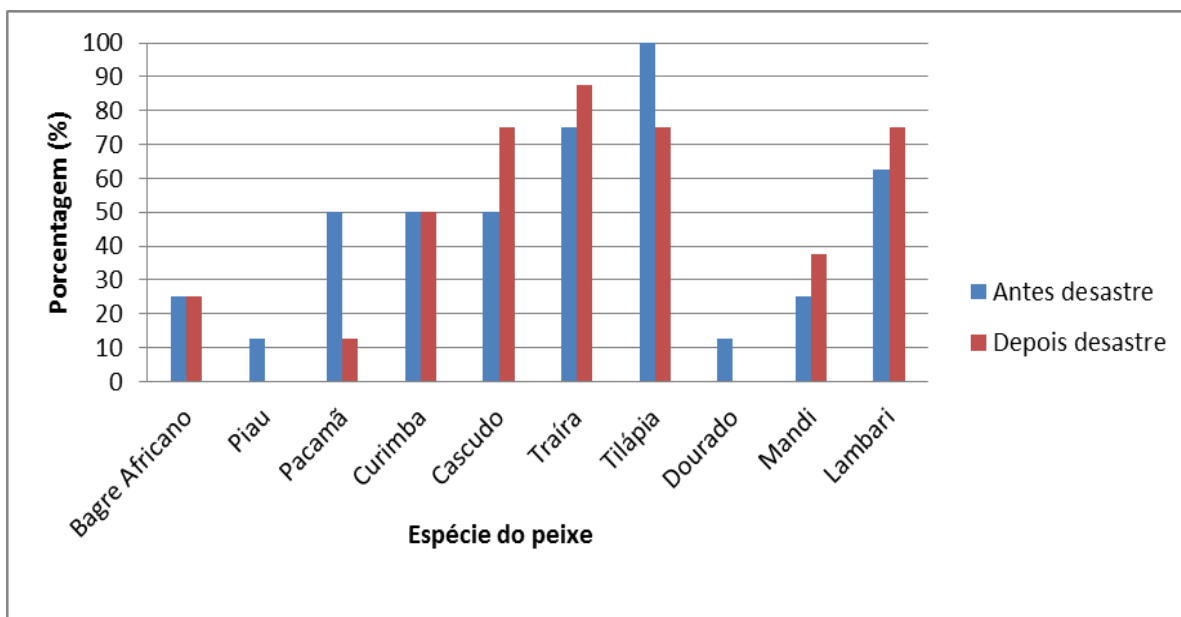
Quanto ao consumo de peixes, todos da Ilha das Pimentas consomem peixes do rio Doce, justificado por ser uma pequena ilha banhada por este rio, o que facilita na pesca. Já dentre os participantes de Santo Antônio do Rio Doce, a maioria consome peixe (71%) e estes são principalmente de água doce (rio Doce e rio Manhuaçu). Como em Teófilo Otoni a população não é acostumada com o ato da pesca igual as outras duas localidades ribeirinhas, a maioria dos entrevistados que consome peixes (84%) não soube dizer o manancial (73,8%), uma vez que possui o hábito de comprar peixes em supermercados e mercearias. Em comum, os entrevistados das três localidades, em sua maioria, afirmam consumir peixes advindos de água doce em menos de duas refeições por semana.

As figuras 14 a 16 mostram a porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Santo Antônio do Rio Doce, Ilha das Pimentas e Teófilo Otoni respectivamente. Para os participantes do grupo controle foi perguntado quais peixes consumiam até o final de 2015 (anteriormente ao desastre); e de 2016 em diante (após o desastre).

**Figura 14 – Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Santo Antônio do Rio Doce**

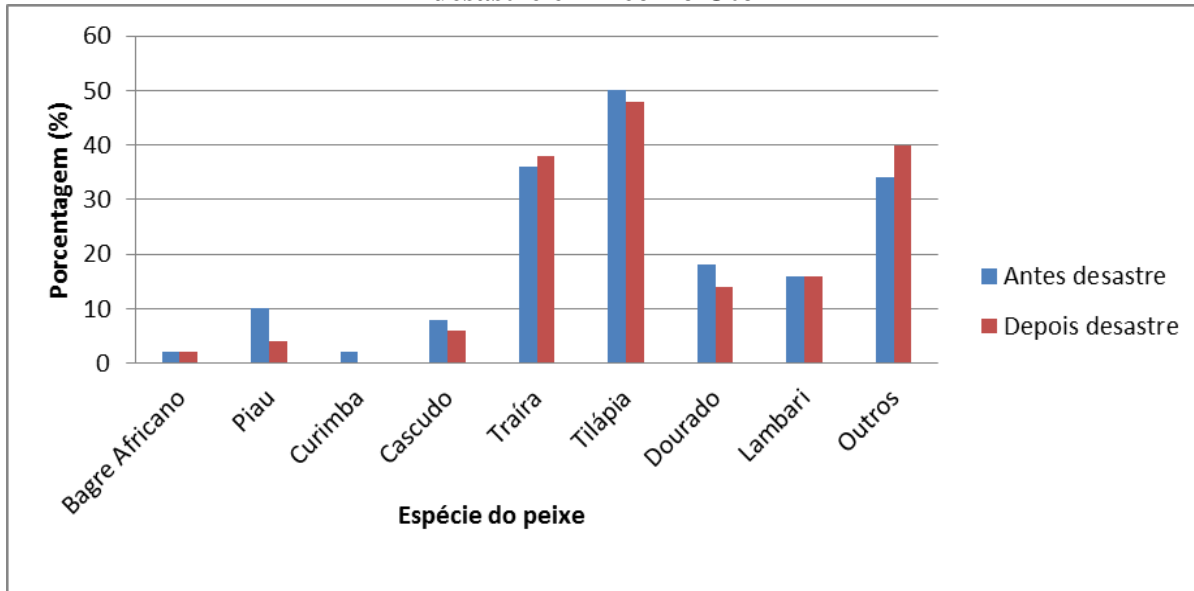


**Figura 15 – Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Ilha das Pimentas**



Fonte: Próprio autor.

**Figura 16 – Gráfico da porcentagem das espécies de peixes consumidas antes e após o desastre em Teófilo Otoni**



Fonte: Próprio autor.

Somente em Santo Antônio do Rio Doce que o percentual do consumo destas espécies de peixes após o desastre foi menor em comparação com o período anterior ao rompimento da barragem, sendo a traíra e tilápia os peixes com maior consumo em todas as localidades.

## 4.2 Peixes

### 4.2.1 Quantificação das espécies

O número total de indivíduos coletados neste trabalho foi de 75. Ao todo foram reconhecidas sete espécies: mandi (*Pimelodus maculatus*); pacu prata (*Myleus sp.*); piranha vermelha (*Pygocentrus nattereri*); piranha preta (*Serrasalmus sp.*); tilápia (*Oreochromis niloticus*); traíra (*Hoplias intermedius*); tucunaré (*Cichla kelberi*). A piranha vermelha foi a responsável pela maior parte dos exemplares (n=42), encontrada nas épocas de seca e chuva e nas localidades Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce.

As amostras dos peixes frescos foram medidas, pesadas e identificadas. A tabela 9 apresenta a quantidade de peixe por espécie, distribuição das médias dos tamanhos (cm) com desvio padrão, valores mínimo e máximo de ambas as localidades. E a tabela 10, por sua vez, apresenta a quantidade por espécie, distribuição das médias dos pesos (g) com desvio padrão, valores mínimo e máximo.

**Tabela 9 - Distribuição das médias dos tamanhos (cm) dos peixes, valores mínimo e máximo, de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie do peixe**

Peixe	Chuva			Seca		
	n (%)	Média ± DP	Min – Max	n (%)	Média ± DP	Min – Max
<b>Ilha das Pimentas</b>						
Tucunaré	2 (28,57)	31,50± 3,50	28 – 35	-	-	-
Mandi	-	-	-	1(33,33)	34,00	34
Piranha vermelha	5 (71,43)	20,80± 1,94	18 – 23	2 (66,67)	26,50± 0,50	26 – 27
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>						
Tucunaré	3 (8,11)	34,00± 1,41	33 – 36	8 (28,57)	31,38± 1,32	30 – 34
Traíra	-	-	-	6 (21,43)	45,00± 1,53	43 – 47
Pacu Prata	2 (5,41)	18,50± 1,50	17 – 20	2 (7,14)	16,50± 0,50	16 – 17
Tilápia	-	-	-	1 (3,57)	43,00	43
Mandi	-	-	-	1 (3,57)	32,00	32
Piranha vermelha	25 (67,57)	21,52± 1,77	19 – 24	10 (35,72)	23,20± 1,54	20 – 26
Piranha preta	7 (18,91)	21,86± 1,55	19 – 24	-	-	-

n: número amostral; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máximo.

**Tabela 10 - Distribuição das médias dos pesos (g) dos peixes, valores mínimo e máximo, de Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie do peixe.**

Peixe	Chuva			Seca		
	n (%)	Média ± DP	Min – Max	n (%)	Média ± DP	Min – Max
<b>Ilha das Pimentas</b>						
Tucunaré	2 (28,57)	440,00 ± 160,00	280 – 600	-	-	-
Mandi	-	-	-	1 (33,33)	450,00	450
Piranha vermelha	5 (71,43)	298,00 ± 22,27	260 – 330	2 (66,67)	575,00 ± 25,00	550 – 600
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>						
Tucunaré	3 (8,11)	560,00 ± 37,42	510 – 600	8 (28,57)	556,25 ± 52,90	500 – 650
Traíra	-	-	-	6 (21,43)	1201,67 ± 98,39	1100 – 1400
Pacu Prata	2 (5,41)	225,00 ± 75,00	150 – 300	2 (7,14)	200,00	200
Tilápia	-	-	-	1 (3,57)	1900,00	1900
Mandi	-	-	-	1 (3,57)	510,00	510
Piranha vermelha	25 (67,57)	354,40 ± 72,50	210 – 480	10 (35,72)	444,00 ± 105,09	310 – 700
Piranha preta	7 (18,91)	358,57 ± 55,92	250 – 410	-	-	-

n: número amostral; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máximo.

Em Santo Antônio do Rio Doce houve maior quantidade de variação de espécies encontradas (sete) e maior quantidade de peixes capturados (65), sendo que a maior parte foi capturada na época de chuva (37). Já na Ilha das Pimentas, foram pescados três espécies de peixes em quantidade maior também na época de chuva (sete). Cabe ressaltar que foram capturados todos os peixes pescados durante dois dias, exceto aqueles que estão proibidos de acordo com a Portaria nº40 de 11 de maio de 2017 (IEF, 2017).

Os peixes podem ser usados como bioindicadores para metais, mostrando o nível de contaminação e biodisponibilidade destes na região em que vivem, mesmo apresentando alguma mobilidade relativa (PFEIFFER *et al.*, 1985). As espécies estudadas de fundo de rio, como cascudo, bagre, mandi, seriam teoricamente bons bioindicadores da deposição recente de material particulado no sedimento e de possíveis contribuições antrópicas. Neste estudo, foram capturados quatro espécies do tipo carnívoro (tucunaré, piranha vermelha, piranha preta, traíra) e três do tipo onívoro (mandi, pacu prata, tilápia).

Por terem potencial de bioacumulação e biomagnificação, estas espécies carnívoras podem acumular maior quantidade de elementos químicos.

#### 4.2.2 Teste do micronúcleo e avaliação da qualidade da água do rio Doce

Em ecossistemas aquáticos os testes mais utilizados são os testes de micronúcleo e de anormalidades nucleares para determinar alterações genéticas nos organismos em águas contaminadas (ARSLAN *et al.*, 2015). O estudo não procurou identificar quais contaminantes do rio são responsáveis pelo dano genético, mas avaliar se há possíveis efeitos mutagênicos interativos de vários contaminantes. O rio Doce é afetado por múltiplas fontes de poluição de origem industrial, doméstica, principalmente esgoto não tratado.

A média da frequência de MN em peixes capturados em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce é mostrada na tabela 11. Os peixes tucunaré e tilápia não apresentaram MN na época de seca, enquanto a piranha vermelha apresentou a maior frequência (0,25%) na época de chuva. As frequências registradas neste estudo podem ser consideradas baixas se comparadas com as que têm sido registradas para outras espécies de peixes não expostas a agentes genotóxicos (TAB. 12).

**Tabela 11 - Médias das frequências (%) de micronúcleos dos peixes da Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce de acordo com a espécie e sazonalidade**

Peixe	Ilha das Pimentas		Santo Antônio do Rio Doce	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca
Tucunaré	0,05±0,03 (2)	-	0,03±0,02 (3)	0 (1)
Traíra	-	-	-	0,04±0,02 (2)
Pacu Prata	-	-	0,16±0,05 (2)	0,04±0,02 (2)
Tilápia	-	-	-	0 (1)
Mandi	-	0,075 (1)	-	-
Piranha vermelha	0,25±0,15 (5)	0,04±0,02 (2)	0,11±0,10 (8)	0,03±0,00 (2)
Piranha preta	-	-	0,03±0,02 (3)	-



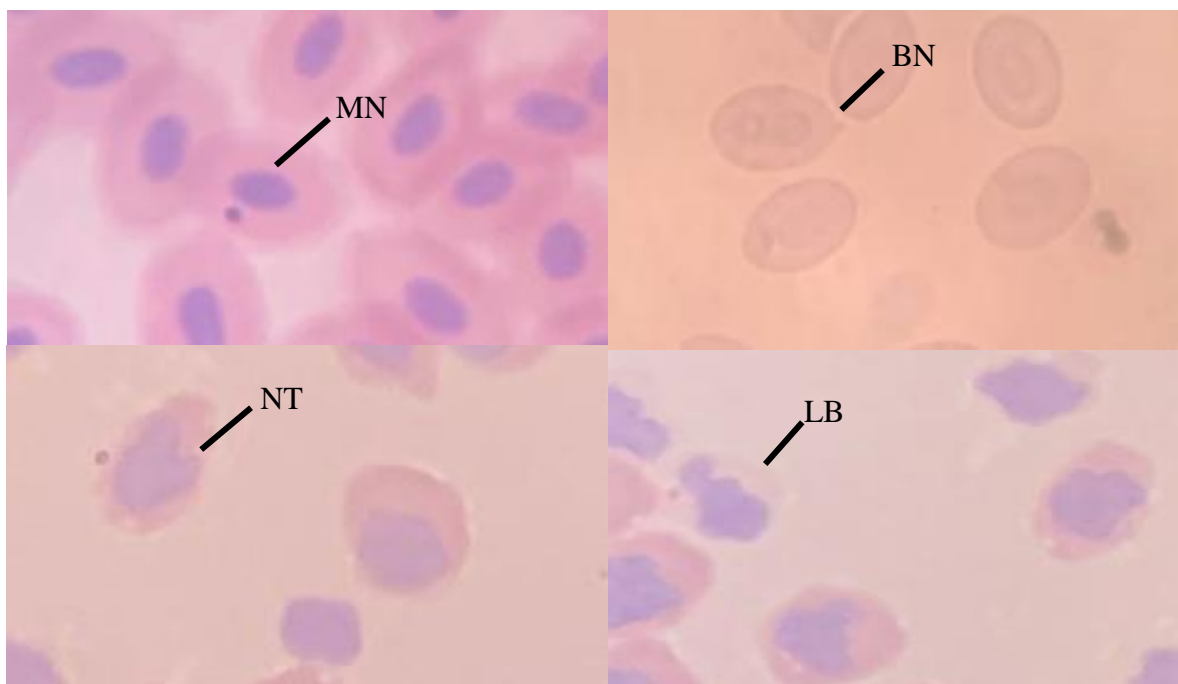
**Tabela 12 - Frequências de micronúcleos em eritrócitos de peixes de água doce em diferentes estudos**

<b>Espécies</b>	<b>MN % (controle)</b>	<b>MN % (exposto)</b>	<b>Referência</b>
<i>Carassius auratus</i> (peixe dourado)	1,80 ± 1,60 (37)	2,32 ± 1,70 (22)	(HAYASHI et al., 1998)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arco-íris)	0,33 ± 0,49 (30)	1,10 ± 0,70 (30)	(DE FLORA et al., 1993)
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo)	1,00 ± 0,50 (6)	1,50 ± 1,00 (151)	(GRISOLIA; STARLING, 2001)
<i>Oreochromis niloticus</i> (tilápia do Nilo)	0,08 ± 0,03 (5)	0,61 ± 0,13 (5)	(DUARTE et al., 2012)
<i>Tilapia rendalli</i> (tilápia do Congo)	1,00 ± 1,00 (6)	2,20 ± 0,90 (161)	(GRISOLIA; STARLING, 2001)
<i>Zacco Platypus</i> (peixe Zacco)	0,70 ± 0,90 (41)	0,80 ± 1,04 (24)	(HAYASHI et al., 1998)

MN: micronúcleo

Nota-se que as frequências de MN são diferentes entre as espécies estudadas. Estas distinções podem estar relacionadas à sensibilidade de cada espécie, do órgão onde a célula foi isolada (brânquias, rins ou sangue periférico), do tipo celular analisado e do ambiente da espécie. Até o modo de capturar e manter o peixe no aquário durante os experimentos também pode alterar a porcentagem de MN (AL-SABTI; METCALFE, 1995).

Na avaliação do efeito mutagênico, somente dois peixes apresentaram anormalidades nucleares, o tucunaré na época de chuva em Ilha das Pimentas (0,175%) e a espécie traíra na época de seca em Santo Antônio do Rio Doce (0,025%), sendo que o primeiro apresentou núcleo “notched”, “lobed” e o segundo apresentou eritrócito binucleado além do micronúcleo (FIG. 17). Comparando com a porcentagem das anormalidades nucleares médias do controle negativo (0,61 ± 0,04) e o controle positivo (3,03 ± 0,28) do trabalho de Duarte *et al.* (2012), percebe-se que a frequência foi baixa nesta pesquisa.

**Figura 17 – Anormalidades nucleares e micronúcleos encontrados nos peixes**

Fonte: Próprio autor. MN: Micronúcleo; BN: binúcleo; NT: núcleo “notched”; LB: núcleo “lobed”.

Ao realizar o teste *t* de Student para análise dos peixes tucunaré, pacu prata e piranha vermelha de ambas as localidades e de acordo com a sazonalidade, obteve resultado com significância estatística ( $p < 0,05$ ), em que as médias das porcentagens de MN na estação chuvosa são maiores que na estação seca (TAB. 16). No estudo de Santos (2004) os peixes acarás (*Geophagus brasiliensis*) e cascudos (*Hypostomus affinis* e *Hypostomus luetkeni*) coletados na bacia do rio Paraíba do Sul tiveram sua média de porcentagem de MN maior na época de chuva ( $0,29 \pm 0,70$ ;  $0,41 \pm 0,70$ ;  $0,46 \pm 0,83$  respectivamente), com sugestão de ausência de dano genotóxico, semelhante aos resultados encontrados no presente trabalho.

A piranha vermelha apresenta maior quantidade dos exemplares, além de ter sido encontrada nas duas épocas e localidades. Por isso, foi comparada a porcentagem média de MN desta espécie no geral, mas não houve significância estatística (TAB. 13). Além disso, não houve significância ao comparar Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce separadamente.

Também foi realizado o teste *t* de Student para comparar a porcentagem média de MN de todas as espécies de acordo com as localidades (TAB. 14). Neste caso houve um resultado com significância estatística ( $p < 0,05$ ), em que a porcentagem das médias de MN na Ilha das Pimentas é maior que em Santo Antônio do Rio Doce.

**Tabela 13 – Comparação das médias das % de MN dos peixes de acordo com a sazonalidade**

	Seca			Chuva			<i>p</i> *
	n	Média	DP	n	Média	DP	
<b>% MN das espécies Tucunaré, Pacu prata e Piranha vermelha de ambas localidades</b>	7	0,03	0,02	20	0,13	0,12	0,02
<b>% de MN Piranha vermelha de ambas localidades</b>	4	0,03	0,01	13	0,17	0,14	0,07
<b>% de MN Piranha vermelha em Ilha das Pimentas</b>	2	0,04	0,02	5	0,25	0,15	0,11
<b>% de MN Piranha vermelha em Santo Antônio do Rio Doce</b>	2	0,03	0,00	8	0,11	0,10	0,27

n: número amostral; DP: desvio-padrão; \* teste *t* de Student.

**Tabela 14 – Comparação das médias das % de MN dos peixes de acordo com as localidades**

	n	Média	DP	<i>p</i> *
<b>Ilha das Pimentas</b>	10	0,15	0,14	0,03
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	24	0,07	0,06	

n: número amostral; DP: desvio-padrão; \* teste *t* de Student.

Vargas *et al.* (2017) avaliaram o potencial mutagênico dos sedimentos de fundo do leito principal do rio Doce após o rompimento de barragem contendo rejeito de minério, através da análise do teste de MN e de anormalidades nucleares em tilápias. As coletas das amostras de sedimento foram realizadas no dia 22 de novembro de 2015 em várias cidades, incluindo em Aimorés e Governador Valadares. Neste trabalho a ocorrência de MN não foi significativa nestes municípios respectivamente ( $3,10 \pm 2,02$ ;  $2,90 \pm 2,13$ ) em relação ao controle negativo (0), porém indicou que o sedimento foi capaz de induzir a formação de anormalidades nucleares significativas, como “lobed” “blebbed” e “notched”, o que indica presença de agentes mutagênicos no sedimento àquela época.

Os peixes são usados para avaliar mudanças no ambiente aquático já que substâncias químicas incorporadas em ambientes naturais interferem no desenvolvimento desses organismos (BUENO *et al.*, 2017). Para complementar esta análise, o presente trabalho avaliou a qualidade da água do rio Doce tanto pelo teste do MN quanto a quantificação dos elementos químicos na época de seca e chuva.

As águas coletadas neste estudo foram em três pontos (P1, P2, P3) em Governador Valadares após a enchente, e em Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas na época de seca e chuva. Os resultados das análises obtidas estão apresentados na Tabela 15. Os parâmetros analisados foram comparados com os valores estabelecidos na Resolução Conama 357/2005, para água doce de classe 2, onde todos os resultados foram satisfatórios. Os valores de Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Se e Pb foram menor que o limite de quantificação.

**Tabela 15 – Concentração total de elementos químicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) das amostras de água do rio Doce por ponto de coleta**

Elementos químicos	Pontos de coleta / Conc. ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )							VMP Conama 357/2005 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
	P1	P2	P3	GVC	GVS	AC	AS	
Al	32,461	28,034	52,333	63,642	<LQ	<LQ	<LQ	100
As	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,541	<LQ	10
Fe	162,123	163,721	283,493	208,484	82,201	25,201	<LQ	300
Mn	7,482	7,247	18,034	7,082	4,571	6,661	2,123	100
Zn	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	20,611	<LQ	180

VMP: Valor Máximo Permitido; LQ: Limite Quantificação; P1: bairro São Paulo; P2: bairro Ilha dos Araújos; P3: bairro São Pedro; GVC: Ilha das Pimentas/Chuva; GVS: Ilha das Pimentas/Seca; AC: Santo Antônio do Rio Doce/Chuva; AS: Santo Antônio do Rio Doce/Seca.

A partir de outubro de 2016, devido ao desastre, o Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) passou a coletar amostras de água do rio Doce mensalmente, nos municípios de Governador Valadares e Aimorés. De acordo com a SEMAD-IGAM (2020), os valores das medianas para Al ( $161$  e  $201 \mu\text{g L}^{-1}$ ), Fe ( $390$  e  $393 \mu\text{g L}^{-1}$ ), e Mn ( $147$  e  $57 \mu\text{g L}^{-1}$ ) respectivamente nestes municípios, apresentaram elevações consideráveis no 1º semestre/2020.

No período chuvoso de 2020 ocorreram chuvas intensas. O Estado de Minas Gerais registrou recordes de índices pluviométricos na média histórica em diversas cidades, que ocasionaram a elevação dos valores de concentração desses parâmetros, o que justifica o aumento do valor da mediana no 1º semestre/2020. Essa elevação indica que o rejeito depositado no leito está disponibilizando o Al, Fe e Mn para a coluna d'água, uma vez o rejeito é uma fonte contínua de metais principalmente Fe e Mn. Em conformidade com o presente trabalho, na época de chuva os resultados de Al, Fe e Mn foram maiores que na seca, porém não apresentou resultado insatisfatório, lembrando que foi coletada

uma amostra pontual e não num período de seis meses como no relatório do SEMAD-IGAM (2020).

No caso do As, Cd, Co, Cr, Ni e Zn, resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados no relatório SEMAD-IGAM (2020), que apresentou a maior parte dos resultados menor ou igual ao limite de quantificação do método analítico.

O teste do MN também é utilizado para avaliar a qualidade da água (AL-SABTI; METCALFE, 1995). Como visto nos trabalhos de Duarte *et al.* (2012), Matsumoto *et al.* (2006), Porto; Araujo; Feldberg (2005) e Zenkner *et al.* (2011) a porcentagem de MN é maior onde a água tem mais contaminante, inclusive os metais, e neste trabalho observa-se que na região da Ilha das Pimentas (Governador Valadares) a concentração dos elementos químicos na água foi maior do que em Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés), assim como a porcentagem de MN.

De um modo geral, era esperado que a porcentagem de MN fosse baixa, já que os resultados da qualidade da água do rio Doce coletados neste trabalho não apresentaram violação. De acordo com a SEMAD-IGAM (2020), o ano de 2016 foi o de maior impacto sobre a qualidade da água, uma vez que foram sentidos os efeitos imediatos da passagem da pluma de rejeitos, porém, a partir de 2017, houve uma redução gradual dos valores de quase todos os parâmetros, exceto no primeiro semestre de 2020, devido ao volume expressivo de chuvas que ocorreu em Minas Gerais, ocasionando uma piora nos resultados de Al, Fe e Mn.

#### ***4.2.3 Determinação de elementos químicos nos peixes***

Os alimentos são fonte de entrada de elementos químicos no nosso organismo e por isso este estudo avaliou os peixes das duas localidades atingidas, em busca de respostas sobre a segurança no consumo desses alimentos, já que as comunidades são conhecidas como pescadoras e consomem grande quantidade destes alimentos. Não obstante, o estudo com os peixes possibilitou apresentar uma avaliação ambiental do que tem sido encontrado no rio Doce.

A porcentagem média de água calculada após a liofilização do tecido muscular dos peixes e brânquias está representada na tabela 16. Os resultados da porcentagem média da umidade dos tecidos encontrados nos trabalhos de Grotto *et al.* (2012), Medeiros *et al.* (2012) e Silva *et al.* (2016) foram  $74,0 \pm 2,7$ ,  $73,4 \pm 4,6$  e  $77,4 \pm 1,2$  respectivamente,

corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. No período de seca observa-se uma maior porcentagem de umidade dos tecidos em relação à época de chuva.

**Tabela 16 - Distribuição das médias (%) de água do tecido muscular e brânquias dos peixes, após liofilização, coletados em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce**

	Ilha das Pimentas		Santo Antônio do Rio Doce	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca
<b>Brânquias</b>	72,58±3,30	75,09±9,50	70,05±3,81	84,18±7,62
<b>Tecido muscular</b>	77,87±1,18	79,74±1,87	76,35±2,82	84,97±3,54

Os resultados da determinação de elementos químicos no tecido muscular dos peixes estão representados na Tabela 17 como média e desvio padrão, mediana, mínimo, máximo e percentil 90 dos elementos químicos essenciais (Cr, Cu, Fe, Se e Zn), sendo que o Co e Mn foram menores que o limite de quantificação. Foi utilizado como valor de referência para “outros alimentos” o Decreto 55871/1965 para os metais que não foram contemplados na Resolução RDC n° 42/2013 e na Portaria n° 685/1998. Cabe ressaltar, ainda, que não existem na legislação brasileira limites máximos estabelecidos para Al, Ba, Co, Fe, Mn. As diferenças significativas entre as concentrações de elementos pelas localidades e classificação foram identificadas pelo teste U de Mann-Whitney e são informadas na tabela.

Quanto aos elementos essenciais, todos os peixes apresentaram valores de Se maior que o valor de referência; e dois peixes em Santo Antônio do Rio Doce, Tucunaré (0,324 mg Kg<sup>-1</sup>) e Piranha vermelha (0,476 mg Kg<sup>-1</sup>), tiveram concentrações de Cr acima da legislação.

**Tabela 17 – Concentração total (mg Kg<sup>-1</sup>) de elementos químicos essenciais no tecido muscular dos peixes de acordo com as localidades e classificação**

Localidade	Conc mg Kg <sup>-1</sup>	Cr	Cu	Fe	Se	Zn
<b>Ilha das Pimentas</b> (n=10)	<b>Média ±DP</b>	<LQ	1,752±0,722	18,656±16,105	2,000±0,505	23,060±6,664
	<b>Mediana</b>	<LQ	1,770	11,765	1,860	20,669
	<b>Mínimo</b>	<LQ	0,916	<LQ	1,374	13,568
	<b>Máximo</b>	<LQ	2,658	55,872	3,159	31,616
	<b>P90</b>	<LQ	2,583	53,345	3,078	31,609
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b> (n=65)	<b>Média ±DP</b>	<LQ	1,496±1,599	9,422±6,668	1,989±0,581	21,607±6,978
	<b>Mediana</b>	<LQ	1,104	9,219	1,953	20,969
	<b>Mínimo</b>	<LQ	0,229	<LQ	0,772	7,459
	<b>Máximo</b>	0,476	13,375	27,539	3,759	43,674
	<b>P90</b>	<LQ	2,247	17,692	2,760	30,593
<b>Carnívoros</b> (n=68)	<b>Média ±DP</b>	<LQ	1,481±1,565	10,497±8,937	2,016±0,538	21,958±7,109
	<b>Mediana</b>	<LQ	1,101	10,205	1,982	20,754
	<b>Mínimo</b>	<LQ	0,229	<LQ	0,772	7,459
	<b>Máximo</b>	0,476	13,375	55,872	3,759	43,674
	<b>P90</b>	<LQ	2,356	20,209	2,658	31,556
<b>Onívoros</b> (n= 7)	<b>Média ±DP</b>	<LQ	2,009±0,705	12,154±8,850	1,744±0,843	20,278±4,666
	<b>Mediana</b>	<LQ	2,011*	8,700	1,447	20,090
	<b>Mínimo</b>	<LQ	0,944	<LQ	1,032	15,083
	<b>Máximo</b>	<LQ	3,120	27,539	3,159	27,808
	<b>P90</b>	<LQ	2,501	19,864	2,721	23,768
<b>Decreto 55871/1965</b>	<b>VR</b>	0,10	30,00	-	0,30	50,00

n: número amostral; DP: desvio-padrão; P90: percentil 90; VR: valor de referência; \*: teste U de Mann-Whitney

A tabela 18 compara os resultados dos elementos tóxicos no tecido muscular dos peixes (Al, As, Ba, Cd, Ni e Pb) encontrados em Santo Antônio do Rio Doce e Ilha das Pimentas com a RDC n°42 (ANVISA, 2013). As diferenças significativas entre as concentrações de elementos pelas localidades e classificação foram identificadas pelo teste U de Mann-Whitney e são informadas na tabela.

Somente um peixe por localidade apresentou resultado no tecido muscular acima do máximo admitido pela legislação: para As (piranha vermelha em Santo Antônio do Rio Doce) e para Cd (tucunaré em Ilha das Pimentas).

**Tabela 18 – Concentração total (mg Kg<sup>-1</sup>) de elementos químicos tóxicos no tecido muscular dos peixes de acordo com as localidades e classificação**

Localidade	Conc mg Kg <sup>-1</sup>	Al	As	Ba	Cd	Ni	Pb
<b>Ilha das Pimentas</b> (n=10)	<b>Média ±DP</b>	17,552±33,602	<LQ	0,197±0,132	0,026±0,040	<LQ	<LQ
	<b>Mediana</b>	3,807*	<LQ	0,160	0,020	<LQ	<LQ
	<b>Mínimo</b>	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Máximo</b>	110,241	0,096	0,477	0,140	<LQ	<LQ
	<b>P90</b>	101,968	0,086	0,458	0,127	<LQ	<LQ
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b> (n=65)	<b>Média ±DP</b>	<LQ	0,077±0,204	0,140±0,084	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mediana</b>	<LQ	<LQ	0,137	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mínimo</b>	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Máximo</b>	30,260	1,577	0,489	0,017	0,461	0,151
	<b>P90</b>	9,031	0,134	0,256	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Carnívoros</b> (n= 68)	<b>Média ±DP</b>	5,042±13,631	0,070±0,198	0,144±0,095	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mediana</b>	1,888	<LQ	0,135	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mínimo</b>	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Máximo</b>	110,241	1,577	0,489	0,140	0,461	0,151
	<b>P90</b>	9,923	0,108	0,278	<LQ	<LQ	<LQ
<b>Onívoros</b> (n= 7)	<b>Média ±DP</b>	9,573±9,825	0,089±0,053	0,184±0,051	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mediana</b>	4,517*	0,096*	0,182	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Mínimo</b>	<LQ	<LQ	0,119	<LQ	<LQ	<LQ
	<b>Máximo</b>	30,260	0,168	0,261	0,017	<LQ	0,112
	<b>P90</b>	17,648	0,131	0,217	<LQ	<LQ	<LQ
<b>RDC n°42</b>	<b>VR</b>	-	1,000	-	0,050	5,00 <sup>1</sup>	0,300

n: número amostral; DP: desvio-padrão; P90: percentil 90; VR: valor de referência da Resolução RDC n°42/2013;

\*: teste U de Mann-Whitney; <sup>1</sup> outros alimentos do Decreto 55871/1965.

Barros *et al.* (2010) avaliaram a presença de Al, Cd, Cr no tecido muscular de peixes das espécies piranha preta e tucunaré coletadas no rio Gelado, Estado do Pará. O mínimo e máximo (mg Kg<sup>-1</sup>) destes elementos químicos foram: 39,21 - 480,70 para Al; 0,47 - 2,95 para Cd; <0,00087 - 2,88 para Cr. De acordo com o estudo, foram constatadas altas concentrações de todos os elementos químicos acima citados. Ao comparar com o presente trabalho, as concentrações de Al, Cd, Cr não são consideradas altas.

Grotto *et al.* (2012) avaliaram várias espécies de peixes em rios brasileiros, sendo o mínimo e máximo (mg Kg<sup>-1</sup>) para seguintes elementos químicos: 0,03 - 0,376 para Mn; 0,003 - 0,102 para Co; 0,2 - 2,840 para Se; 0,001 - 0,007 para Fe; 0,005 - 0,409 para



Ba. Somente o Se que foi considerado em mais alta concentração. Ao comparar com o presente trabalho, as concentrações de Fe e Se são consideradas altas.

Rose *et al.* (2010) avaliaram concentração de Ba em amostras de peixes que apresentaram um nível médio de Ba de  $0,140 \text{ mg Kg}^{-1}$ , semelhante à média encontrada no presente estudo.

Já em relação aos grupos carnívoros e onívoros, houve diferença estatística significativa para Al, As e Cu, sendo todas as medianas maiores nos peixes onívoros. Não foi encontrado resultado de As acima da legislação nos peixes onívoros, porém um peixe carnívoro ( $1,577 \text{ mg kg}^{-1}$ ) teve este resultado insatisfatório. Percebe-se também, que todos os valores máximos dos elementos químicos foram encontrados em peixes carnívoros. Para Jones; Mercurio; Olivier (2000), peixes carnívoros tendem a acumular maiores teores de elementos metálicos que herbívoros e onívoros, o que justifica nos animais predadores os valores de concentração mais elevados.

Ao realizar análise estatística de todas as espécies carnívoras, entre o tamanho e peso, houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Como a piranha foi o único peixe encontrado em ambas as localidades e sazonalidade, além de ter um número considerável ( $n = 49$ ), foi realizado o teste de correlação Spearman, entre o tamanho e peso com os elementos químicos (TAB. 19). Quanto ao peso do peixe, houve correlação estatística significativa entre Al, Ba, Cd, Fe e Zn. E quanto ao tamanho do peixe, a correlação foi entre Al, Cd e Fe, sendo todas negativas.

De acordo com Liao *et al.* (2003), a acumulação de elementos químicos em peixes depende do tamanho, peso e metabolismo de absorção dos componentes. Normalmente, peixes com menores tamanhos conseguem bioacumular uma quantidade superior de metais por conta da velocidade de sequestro e eliminação desses elementos, como observado neste estudo para Al, Cd e Fe.

Por fim, ao comparar as concentrações dos elementos químicos dos peixes quanto a sazonalidade, houve diferença estatística para Al ( $3,854 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), As ( $0,058 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), Cd ( $0,015 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), Fe ( $14,140 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) e Zn ( $22,637 \text{ mg Kg}^{-1}$ ), sendo todas as medianas maiores na época de chuva exceto para o arsênio que foi maior na época de seca.

**Tabela 19 – Correlação entre o tamanho e peso dos peixes com os elementos químicos**

Elemento químico	Variável	r	p*
<b>Al</b>	Peso	-0,527	<0,0001
	Tamanho	-0,333	0,019
<b>Ba</b>	Peso	-0,353	0,013
<b>Cd</b>	Peso	-0,367	0,009
	Tamanho	-0,314	0,028
<b>Fe</b>	Peso	-0,548	<0,0001
	Tamanho	-0,314	0,028
<b>Zn</b>	Peso	-0,408	0,004

r: coeficiente de correlação ; \*teste de correlação Spearman

A Tabela 20 apresenta os valores das medianas das brânquias e tecido muscular dos peixes por elemento químico juntamente com o teste U de Mann-Whitney.

**Tabela 20 – Mediana (mg Kg<sup>-1</sup>) das brânquias e tecido muscular dos peixes por elemento químico**

Elemento químico	Brânquias	Tecido Muscular	p*
<b>Al</b>	73,046	<LQ	<0,0001
<b>As</b>	0,050	<LQ	0,008
<b>Ba</b>	0,713	0,139	<0,0001
<b>Cd</b>	0,022	<LQ	<0,0001
<b>Co</b>	0,998	<LQ	0,024
<b>Cr</b>	0,297	<LQ	0,002
<b>Cu</b>	8,217	1,124	<0,0001
<b>Fe</b>	370,967	10,151	<0,0001
<b>Mn</b>	3,285	<LQ	<0,0001
<b>Ni</b>	0,265	<LQ	0,010
<b>Pb</b>	0,167	<LQ	<0,0001
<b>Se</b>	2,914	1,937	<0,0001
<b>Zn</b>	66,275	20,689	<0,0001

LQ: Limite Quantificação; p\*: teste U de Mann-Whitney.

Os resultados obtidos para todos os elementos estudados mostraram estatisticamente que as brânquias apresentaram mediana maior em comparação à musculatura dos peixes, como também observado nos trabalhos de Caetano; Martins;

Merlini (2011), Jabeen; Javed; Azmat (2012) e Silva *et al.* (2016). As variações das concentrações de Al (20,871 a 1533,197 mg Kg<sup>-1</sup>), Ba (0,236 a 3,211 mg Kg<sup>-1</sup>), Cd (0,065 a 0,181 mg Kg<sup>-1</sup>), Cr (<LQ a 0,866 mg Kg<sup>-1</sup>), Fe (169,031 a 1241,225 mg Kg<sup>-1</sup>), Mn (<LQ a 15,510 mg Kg<sup>-1</sup>), Se (1,778 a 7,950 mg Kg<sup>-1</sup>) e Zn (39,932 a 700,51 mg Kg<sup>-1</sup>) nas brânquias estão acima dos valores máximos permitidos pelas legislações e podem ser considerados elevados quando comparados aos relatados em estudos anteriores em outras regiões geográficas. Concentrações elevadas em tecidos branquiais são importantes como indicador de poluição ambiental (SILVA *et al.*, 2016).

Os elementos químicos quando absorvidos pelos peixes em águas contaminadas, se acumulam nos tecidos principalmente no fígado, brânquias, estômago, rins, dependendo da concentração exposta e do metal (Fabris *et al.*, 2006). As diferenças de acúmulo de metais em vários órgãos dos peixes são basicamente atribuídas a distinção na função fisiológica e a capacidade de órgãos específicos em regular os metais (KARUPPASAMY, 2004; MURUGAN *et al.*, 2008). No caso das brânquias, é o órgão que entra em contato direto com a água para fazer as trocas gasosas, adsorvendo os metais na superfície do tecido branquial (SILVA; ALMEIDA; MERLINI, 2011).

Os peixes são muito utilizados no monitoramento ambiental por não serem estáticos no ambiente e pela capacidade de absorver os poluentes através da alimentação ou respiração branquial. Com isso, avaliam a integridade físico-química do ambiente e a resposta a mudanças ambientais decorrentes da poluição ambiental, fornecendo um panorama das condições do ambiente, além da qualidade da água no local (SILVA *et al.*, 2016).

O músculo não acumula ativamente metais por causa de sua taxa metabólica (SILVA *et al.*, 2016). No entanto, a avaliação das concentrações dos elementos químicos no tecido muscular é importante para calcular estimativas das quantidades de metais que os humanos podem consumir.

#### **4.2.4 Ingestão diária de elementos químicos e avaliação de risco**

Os peixes são fontes importantes de proteínas para muitas pessoas. Portanto, estimar a ingestão diária (EID) de elementos essenciais e tóxicos desse alimento é fundamental para avaliar o risco. Será estimada com base em um levantamento da

quantidade de peixe consumida por famílias brasileiras e na concentração de elementos em peixe cru.

O consumo médio de peixe no Brasil é 13,1 g/pessoa/dia, sendo 14,9g para homens e 11,5g para mulheres. No entanto, o consumo varia consideravelmente de região para região. Por exemplo, pessoas no Norte e Nordeste consomem 45 e 18,8 g/pessoa/dia, respectivamente, enquanto no Sudeste o consumo é apenas 6,1 g/pessoa/dia (IBGE, 2020).

Para o cálculo do EID, foram considerados dois cenários: o primeiro corresponde ao consumo de peixes na região Sudeste ( $6,1\text{g dia}^{-1}$ ); e o segundo corresponde ao consumo de uma porção ( $60\text{g dia}^{-1}$ ) estabelecida no Regulamento Técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional, RDC 359/2003 (ANVISA, 2003). O peso corporal considerado foi de 60 kg.

As tabelas 21 e 22 apresentam os valores de EID de elementos químicos essenciais e tóxicos respectivamente, para os peixes analisados no presente estudo, por região e diferentes cenários, comparando com o Regulamento Técnico RDC nº269/2005 sobre a ingestão diária recomendada para adultos (ANVISA, 2005) e o limite máximo permitido para a suplementação de acordo com o Anexo IV da Instrução Normativa nº28/2018 (ANVISA, 2018).

Para alimentos que apresentam contaminantes, medidas promotoras de ações devem ser tomadas a fim de controlar a contaminação e reduzir a exposição ao homem, apresentando a quantidade do elemento presente no alimento e/ou água que pode ser ingerida diariamente ao longo da vida sem que ocorram efeitos adversos à saúde. Dessa forma, foi desenvolvido um parâmetro de ingestão segura para humanos. Para os elementos tóxicos foram considerados os limites máximos de ingestão semanal (PTWI) ou mensal (PTMI) estabelecidos pela Codex Alimentarius Commission, comissão composta pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, em conjunto com a Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO, 2016).

**Tabela 21 - Estimativa de ingestão diária de elementos essenciais (mg dia<sup>-1</sup>), considerando diferentes cenários, de amostras de peixes em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce**

	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Se	Zn
<b>Ilha das Pimentas<sup>1</sup></b>	0,002	0,001	0,011	0,114	0,007	0,012	0,141
<b>Ilha das Pimentas<sup>2</sup></b>	0,024	0,008	0,105	1,112	0,072	0,120	1,387
<b>Santo Antônio do Rio Doce<sup>1</sup></b>	0,002	0,001	0,009	0,057	0,007	0,012	0,132
<b>Santo Antônio do Rio Doce<sup>2</sup></b>	0,024	0,008	0,089	0,565	0,072	0,119	1,297
<b>RDC n°269/2005</b>	-	0,035	0,900	14,000	2,300	0,034	7,000
<b>Anexo IV da IN n° 28/2018</b>	-	0,250	8,975	34,310	1,660	0,319	29,590

<sup>1</sup>:consumo sob a região Sudeste 6,1g; <sup>2</sup>: consumo sob uma porção 60g

**Tabela 22 - Estimativa de ingestão diária de elementos tóxicos (mg dia<sup>-1</sup>) considerando diferentes cenários, de amostras de peixes em Ilha das Pimentas e Santo Antônio do Rio Doce**

	Al	As	Ba	Cd	Ni	Pb
<b>Ilha das Pimentas<sup>1</sup></b>	0,107	0,0001	0,001	0,0002	0,0007	0,0003
<b>Ilha das Pimentas<sup>2</sup></b>	1,053	0,001	0,012	0,002	0,007	0,003
<b>Santo Antônio do Rio Doce<sup>1</sup></b>	0,011	0,0005	0,0008	0,0001	0,0007	0,0003
<b>Santo Antônio do Rio Doce<sup>2</sup></b>	0,113	0,005	0,008	0,001	0,007	0,003
<b>PTWI</b>	2mg/Kg	-	-	7ug/Kg	-	-
<b>PTMI</b>	-	-	-	25ug/Kg	-	-

<sup>1</sup>:consumo sob a região Sudeste 6,1g; <sup>2</sup>: consumo sob uma porção 60g

Em relação aos elementos essenciais, os peixes contribuíram moderadamente para a ingestão alimentar ao considerar o maior consumo (porção de 60g) na Ilha das Pimentas: para Cr (22,8%), Zn (19,8%), Cu (11,6%), Fe (7,9%), Mn (4,3%), sendo somente o Se que teve acima do recomendado, porém abaixo do limite máximo permitido nas legislações brasileiras (37,61%).

Ao considerar os elementos tóxicos, Al e Cd, os valores consumidos diariamente foram corrigidos para comparação com a dose de segurança estabelecida. O valor padronizado foi calculado multiplicando-se a média de concentração dos elementos tóxicos nos peixes analisadas com o consumo médio de 60 g num período de sete dias. O valor obtido foi dividido pela massa corpórea média de um indivíduo adulto (60 kg) e comparado com as concentrações médias de acumulação semanal estabelecida pela FAO/WHO, conforme Tabela 22. Para o PTMI, os valores de consumo diário foram multiplicados por 30.

Dessa forma, considerando os maiores valores de Ilha das Pimentas e o maior consumo (um porção 60g), o comprometimento do PTWI para Al foi 6,14% e Cd 3,33%; e o comprometimento do PTMI para Cd foi 4,0%. Ou seja, as estimativas para os dois elementos tóxicos não excederam os valores de referência.

#### 4.3 Determinação de elementos químicos na lama em Governador Valadares

Devido à enchente ocorrida em Governador Valadares no final do mês de janeiro/2020, foram coletadas três amostras de lama em distintos bairros, para avaliar a qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas. Na tabela 23 é apresentada a concentração dos elementos químicos nos três pontos coletados (bairro São Paulo, bairro Ilha dos Araújo, bairro São Pedro), comparando com o limite de prevenção da contaminação dos solos da Conama 420/2009 e com os Valores de Referência de Qualidade dos Solos para o Estado de Minas Gerais (Copam 166/2011).

**Tabela 23 – Concentração dos elementos químicos ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) em amostras de lama em Governador Valadares**

Elementos químicos	Pontos de coleta / Conc. ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )			Valor de prevenção Conama 420/2009	Valor de referência Copam 166/2011
	P1	P2	P3		
Al	3,299	3,208	5,785	-	-
As	<LQ	<LQ	<LQ	15	8
Ba	<LQ	<LQ	<LQ	150	93
Cd	<LQ	<LQ	<LQ	1,3	<0,4
Co	<LQ	<LQ	<LQ	25	6
Cr	0,005	0,005	0,018	75	75
Cu	<LQ	<LQ	<LQ	60	49
Fe	11,458	14,105	20,434	-	-
Mn	0,277	0,213	0,460	-	-
Ni	0,004	<LQ	0,005	30	21,50
Pb	<LQ	<LQ	<LQ	72	19,5
Se	<LQ	<LQ	<LQ	5	0,5
Zn	0,051	<LQ	0,042	300	46,5

LQ: Limite Quantificação; P1: bairro São Paulo; P2: bairro Ilha dos Araújo; P3: bairro São Pedro.

De todos os elementos químicos avaliados, somente o Al, Fe e Mn não têm valores de referência na legislação brasileira. Todos os outros se encontram dentro dos valores permitidos. Ressalta-se que estes valores apresentados são teores totais e não necessariamente estariam totalmente disponíveis, necessitando avaliar para cada elemento a sua fração disponível para o meio, seja para a água ou sedimento.

No trabalho de Davila *et al.* (2020) foi avaliado o rejeito depositado em Fundão e o solo do grupo controle (não afetado pelo desastre na mesma área). Todos os elementos químicos avaliados (As, Ba, Co, Cr, Cu, Ni, V, Zn, Fe e Mn) apresentaram resultados maiores que o presente estudo. Os valores de Fe e Mn encontrados foram 128.000 e 600 mg Kg<sup>-1</sup> respectivamente. Assim como este estudo, a pesquisa de Davila *et al.* (2020) apresentou o Fe como a maior concentração dentre os outros metais.

A baixa concentração de metais nos rejeitos e o alto teor de Fe são justificados pela composição do itabirito, uma matéria-prima usada para extrair o minério de ferro, que é composto principalmente de quartzo e hematita e contém baixa quantidade de elementos químicos (SILVA *et al.*, 2017). Segura *et al.* (2016) também encontrou na região de Bento Rodrigues baixo teor de metais nos rejeitos em comparação com as áreas próximas não afetadas.

Várias amostras de solo superficial em Minas Gerais foram avaliadas no trabalho De Souza *et al.* (2015b) indicando que apenas um valor de referência de qualidade de todo o Estado não representa a diversidade geoquímica do solo. Quanto as concentrações dos metais Al, Fe e Mn, os autores encontraram as respectivas medianas para conjunto de todos os solos (mg Kg<sup>-1</sup>): 57.100 ; 38.000; 189. Em comparação com as três amostras de lama avaliadas neste presente trabalho, os valores encontrados foram consideravelmente menores.

Por mais que os rejeitos apresentem baixa concentração de elementos químicos na maioria das amostras, considera-se que o forte fluxo de lama causou a remoção e dispersão de solos e sedimentos previamente contaminados, carregando-os rio abaixo (SILVA *et al.*, 2018). O resultados dos rejeitos no estuário do Rio Doce (QUEIROZ *et al.*, 2018) foram maiores que o trabalho avaliado em Fundão por Davila *et al.* (2020). A concentração de metais em barragem de rejeitos de minas mostrou um padrão irregular ao longo do caminho percorrido pela lama, ou seja, eles não aumentaram ou diminuíram com a distância (KOSSOFF *et al.*, 2014).

Um dos grandes problemas da mineração são os rejeitos decorrentes dessa atividade, pois contribuem para o aumento de metais no solo e em sistemas aquáticos. O aumento destes elementos químicos pode estar relacionado com processos químicos e biológicos que controlam a disponibilidade, solubilidade e a mobilidade dos metais na água e solo (MUNIZ; FILHO, 2006). Dessa forma, os metais podem chegar às cadeias alimentares por meio dos peixes e outros alimentos, que são ingeridos pelos humanos.

#### **4.4 Biomonitoramento humano**

Os elementos químicos desempenham um papel importante na saúde humana, e é essencial monitorar as concentrações destes, com a finalidade de avaliar a exposição da população que foi afetada pelo rompimento da barragem de Fundão. O uso de dois ou mais tipos de matrizes biológicas provaram ser mais eficazes em estudos de biomonitoramento (ABDELBAGI *et al.*, 2013) por isso, para avaliação da exposição recente foram coletadas amostras de sangue total, soro e urina das comunidades de Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce, e do grupo controle em Teófilo Otoni. Foram determinados os elementos químicos Al, As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Zn.

##### ***4.4.1 Determinação dos elementos no sangue total, soro e urina***

Todos os voluntários da pesquisa forneceram os três materiais biológicos. Foram determinadas as concentrações dos elementos químicos tóxicos (As, Al, Ba, Cd, Hg, Ni, Pb) no sangue total (TAB. 24), no soro (TAB. 25), na urina (TAB. 26) e na urina com correção da creatinina (TAB. 27) das três localidades. Os resultados obtidos foram comparados com estudos em outras regiões do Brasil, pela ATSDR e com o grupo controle. As diferenças significativas entre as concentrações de elementos químicos pelas localidades foram identificadas pelo teste de Kruskal-Wallis e são informadas em cada uma das tabelas.

Os valores de creatinina foram usados para regularizar as concentrações dos elementos químicos na urina, devido à diferença na diurese. Morton *et al.* (2014) pesquisaram a efetividade do ajuste de creatinina em 31 elementos na urina. Este ajuste foi favorável para 22 elementos, incluindo Ba, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Se e Zn, mas nenhuma mudança significativa na variabilidade intra-individual em outros elementos, como Al, As,



Cr e Pb. Porém, é interessante expor os dois valores, já que alguns limites no Brasil e no exterior são reportados pela creatinina corrigida e outros não corrigida. Neste trabalho, todas as medianas da concentração corrigida pela creatinina foram menores que na urina não corrigida.

**Tabela 24 – Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de sangue total em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	As	Ba	Cd	Hg	Ni	Pb
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	29,25±12,40	4,79±1,47	1,99±1,74	6,61±4,52	68,16±19,36	68,70±55,30
	Mediana	16,64*	4,44*	1,37*	7,17*	64,26*	45,45*
	Mínimo	8,11	3,23	1,12	0,60	41,66	37,32
	Máximo	88,49	6,81	6,03	12,37	107,05	201,70
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	8,03±14,76	2,52±2,98	1,70±1,97	1,32±1,93	3,71±31,13	21,81±30,44
	Mediana	1,97	1,60	0,86	0,72	<LQ	18,27
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	63,86	16,72	8,61	11,45	310,31	237,43
	P95	53,26	9,77	7,18	4,24	<LQ	63,34
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	18,48±17,82	2,29±3,22	0,66±0,52	0,62±0,76	9,29±22,61	16,07±14,27
	Mediana	15,45	0,80	0,59	0,39	<LQ	15,67
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	93,81	13,54	2,47	3,51	118,85	56,91
	P95	54,61	11,38	1,64	2,29	59,84	49,03
<b>Valor de Referência</b>		0,1-6,1 <sup>1,4</sup>		0,06-1,7 <sub>1,3,4,5,6</sub>	0,10-65,8 <sup>4,5</sup>	0,12-3,9 <sup>1</sup>	1,3-163 <sub>1,2,4,5,6,7</sub>

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> Nunes *et al.* (2010); <sup>2</sup>Freire *et al.* (2014); <sup>3</sup>Freire *et al.* (2015); <sup>4</sup>Takeda *et al.* (2017); <sup>5</sup>Kuno *et al.* (2013); <sup>6</sup>Kira *et al.* (2016); <sup>7</sup>Paoliello *et al.* (2001)

**Tabela 25 – Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de soro em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Al	Ba	Cd	Ni	Pb
Ilha das Pimentas	Média±DP	25,20±20,85	35,09±21,19	0,20±0,31	0,26±0,24	<LQ
	Mediana	19,17	25,98*	<LQ	<LQ	<LQ
	Mínimo	11,35	12,01	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	74,73	72,76	0,95	0,82	<LQ
Santo Antônio do Rio Doce	Média±DP	31,32±24,91	1,63±1,52	1,77±1,89	1,09±5,67	<LQ
	Mediana	24,17	1,27	1,27*	<LQ	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	0,39	<LQ	<LQ
	Máximo	127,76	10,16	16,85	56,72	22,09
	P95	77,92	4,12	4,60	2,48	<LQ
Teófilo Otoni	Média±DP	37,99±37,51	1,27±1,38	1,42±2,50	0,49±0,78	<LQ
	Mediana	30,80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	214,28	7,81	15,03	4,12	23,25
	P95	131,51	4,01	5,99	2,48	10,62
<b>Valor de Referência</b>		1-3 <sup>1</sup>			0,2 <sup>1</sup> 0,61-1,0 <sup>2</sup>	

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> ATSDR (2007); <sup>2</sup> Rocha *et al.* (2016b).

**Tabela 26 – Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Al	As	Cd	Hg	Ni	Pb
Ilha das Pimentas	Média±DP	72,26±53,50	6,87±6,20	3,15±2,63	0,36±0,30	0,43±0,21	7,36±7,00
	Mediana	45,13*	6,24	2,33*	0,12	0,35	3,21
	Mínimo	<LQ	<LQ	0,78	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	167,32	19,14	9,55	0,92	0,99	21,87
Santo Antônio do Rio Doce	Média±DP	44,45±36,40	6,38±7,81	3,74±6,30	1,64±0,87	2,04±1,35	31,60±17,60
	Mediana	17,68	3,19	1,29	1,09	1,97	19,42
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	270,96	51,19	38,67	7,94	8,19	118,58
Teófilo Otoni	Média±DP	21,63±13,64	7,43±7,09	1,10±0,99	1,56±0,90	4,39±3,91	13,27±5,76
	Mediana	14,85	5,91	0,77	1,23	1,14	11,42
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	85,04	30,70	4,32	3,58	27,05	34,71
<b>Valor de Referência</b>		0,22 -17,50 <sup>2</sup>		<100 <sup>1</sup>		0,05 - 0,83 <sup>2</sup>	
						1-3 <sup>1</sup>	
						0,1- 4,2 <sup>2</sup>	

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> ATSDR (2007); <sup>2</sup> Batista *et al.* (2009c)

**Tabela 27 – Concentração dos elementos tóxicos ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Al	As	Cd	Hg	Ni	Pb
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	7,86±6,80	2,00±3,09	2,87±3,02	<LQ	<LQ	1,88±2,00
	Mediana	6,09*	0,78	1,90*	<LQ	<LQ	1,37
	Mínimo	<LQ	<LQ	0,22	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	19,24	9,08	8,55	0,17	1,34	4,71
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	3,10±4,79	3,01±6,11	0,85±1,45	0,11±0,36	0,39±0,68	1,38±3,76
	Mediana	<LQ	0,39	0,26	<LQ	<LQ	0,10
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	27,84	33,18	6,94	2,94	3,34	21,28
	P95	16,30	18,35	4,02	0,67	2,33	3,93
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	<LQ	3,32±5,01	0,36±0,38	0,32±0,77	<LQ	0,43±0,94
	Mediana	<LQ	1,15	0,22	<LQ	<LQ	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	8,89	20,61	1,53	4,34	3,57	3,71
	P95	6,56	18,18	1,21	2,28	1,96	3,60
<b>Valor de Referência</b>		9,71 - 13,67 <sup>1</sup>		0,09-55,0 <sup>2</sup>	1,0-2,1 <sup>1</sup>		

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup>Rocha *et al.* (2016b); <sup>2</sup>Castilhos *et al.* (2015)

Todos os voluntários de Ilha das Pimentas apresentaram concentração de As no sangue maior que o valor de referência brasileiro, chegando a 14 vezes acima, porém nenhum resultado acima do VR em amostras de urina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina). Já em Santo Antônio do Rio Doce, 29% e 7% das amostras de sangue e urina respectivamente apresentaram valores altos. O As no sangue dos voluntários da Ilha das Pimentas teve maior mediana estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Isso pode ser devido ao fato da população ribeirinha da Ilha das Pimentas não ter água tratada e consumir água de poço artesiano; devido ao consumo do cigarro onde 50% dos participantes responderam no questionário que fumam, pois se sabe que o cigarro afeta as concentrações de metais nos fluidos corporais (KIM; KIM; KHO, 2010) e neste estudo a correlação foi significativa ( $p = 0,012$ ) ou devido ao consumo de alimentos contaminados.

Semelhante ao presente estudo, altas concentrações de As no sangue (5,8 - 269  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), foram encontradas em regiões do Espírito Santo afetadas pelo rompimento da barragem de Fundão no trabalho de Paulelli (2019). No seu estudo, houve predomínio da espécie inorgânica As (III), a mais tóxica, detectado na urina.

O As é um elemento presente na natureza que pode ser tóxico para humanos, animais e plantas (DEVESA; VELEZ; MONTORO, 2008). Nos humanos pode desenvolver câncer de pele, pulmão, fígado, bexiga, rins e cólon (ATSDR, 2007).

Quanto às concentrações de Ni no sangue, em todos os participantes de Ilha das Pimentas foram altos, chegando a 27 vezes acima do VR, porém todos os resultados foram normais nas amostras de soro e urina. Já em Santo Antônio do Rio Doce, somente 3% dos voluntários tiveram resultados discordantes no sangue, 13% no soro e 5% na urina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina). O consumo de produtos vegetais e animais, como espinafre, alface, castanhas amendoim, cacau em pó e bebidas ácidas pode aumentar a ingestão de Ni (SHARMA, 2013).

O Ni é cancerígeno quando consumido em quantidades excessivamente altas (SNEDDON *et al.*, 2007). Seus efeitos são relacionados a diminuição do crescimento, principalmente no desenvolvimento intra-uterino (KUMAR; TRIVEDI, 2016), câncer de pulmão, nariz, garganta e estômago (DUDA-CHODAK; BLASZCZYK, 2008).

As concentrações de Al no soro e na urina (não corrigida) em Santo Antônio do Rio Doce têm valores 42 e 15 vezes acima do VR respectivamente. Já em Ilha das Pimentas, todos os participantes tiveram altas concentrações no soro, chegando a 24 vezes acima do VR, e em metade dos participantes na urina. Porém, ao comparar com a concentração média da urina ( $35,90 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) de um grupo exposto ocupacionalmente (FREIRE *et al.*, 2020), todos os nossos valores encontrados foram menores.

A toxicidade do Al em humanos está principalmente associada à neurotoxicidade e ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas doença de Alzheimer e autismo (VERSTRAETEN; AIMO; OTEIZA, 2008). O aumento de Al em alguns pacientes com insuficiência renal crônica, está relacionada a encefalopatia de diálise, osteodistrofia osteomalácica de diálise e anemia (HEWITT; SAVORY; WILLS, 1990).

O Ba apresentou concentração no sangue e soro em Ilha das Pimentas de 3,23 a  $6,81 \mu\text{g L}^{-1}$  e 12,01 a  $72,76 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente, enquanto que em Santo Antônio do Rio Doce esta variação foi <LQ a  $16,72 \mu\text{g L}^{-1}$  no sangue e <LQ a  $10,16 \mu\text{g L}^{-1}$  no soro. Ao comparar com a mediana de Ba no soro ( $645 \mu\text{g L}^{-1}$ ) de um grupo controle em São Paulo (JERONYMO; BARROS; SESSO, 2005), todos os resultados do presente trabalho foram

menores. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) ao analisar o caso x controle, onde a região caso teve a maior mediana no soro ( $1,43 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

A toxicidade do Ba é produzida pelo cátion livre e os compostos muito solúveis são mais tóxicos que os insolúveis, como o sulfato de bário. Ingestão de pouca quantidade em curto período de tempo pode provocar vômito, cólica estomacal, dificuldade respiratória e debilidade muscular. Em mais altas quantidades pode causar alterações no ritmo cardíaco, paralisia e diminuição do potássio no sangue (KLAASSEN; AMDUR, 2013).

Foram observadas concentrações elevadas de Cd no sangue e urina respectivamente em 48% e 39% nos participantes de Santo Antônio do Rio Doce, chegando a valores no sangue cinco vezes acima do VR e 46 vezes na urina. Já na Ilha das Pimentas, somente uma pessoa apresentou resultado alto no sangue e 50% apresentaram na urina (não corrigida) acima do VR. As principais fontes de exposição não ocupacional ao Cd são dieta e tabagismo (KIRA *et al.*, 2016).

No trabalho de Paulelli (2019), a média de Cd no sangue e urina foi de  $0,133 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $0,110 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente, observando que o presente trabalho estas médias foram maiores. As concentrações no soro em Santo Antônio do Rio Doce são maiores em comparação com a população dos municípios da Baía de Sepetiba expostos ocupacionalmente ( $0,01$  a  $1,03 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (FERREIRA; WERMELINGER, 2013). Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde a região caso teve a maior mediana no sangue ( $1,35 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e no soro ( $1,23 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Um dos efeitos mais expressivos do Cd é ser carcinogênico para os humanos. Além disso, leva a sobrecarga renal com a perda anormal de proteínas. Diminui a absorção do cálcio e aumenta sua excreção no trato digestório, favorecendo osteoporese (KLAASSEN; AMDUR, 2013).

As concentrações de Hg em ambas as localidades, tanto no sangue quanto urina, apresentou resultados abaixo do VR. O trabalho de Paulelli (2019) encontrou nos participantes do Espírito Santo uma média no sangue de  $6,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e na urina de  $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ , com valores um poucos maiores que no nosso trabalho. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde a região caso teve a maior mediana no sangue ( $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

O Hg na sua forma orgânica (metilmercúrio) é a espécie mais tóxica, e sua toxicidade está relacionada ao risco de infarto do miocárdio, atividade motora, doença

coronariana e doença cardiovascular (CARDOSO *et al.*, 2001; OGA; CARVALHO; BATISTUZZO, 2014).

Por fim, o último elemento tóxico determinado foi o Pb. Somente um resultado de sangue em Ilha das Pimentas e um resultado em Santo Antônio do Rio Doce foram acima do VR. No soro, todos os resultados foram <LQ, exceto em Santo Antônio do Rio Doce que apresentou um resultado 22,09  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Ao comparar com as concentrações no soro (0,11 a 6,45  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) da população exposta ocupacionalmente (FERREIRA; WERMELINGER, 2013), somente um resultado em Santo Antônio do Rio Doce que foi maior. Quanto aos valores de Pb na urina ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), 25% dos voluntários de Ilha das Pimentas tiveram resultado acima do VR chegando a sete vezes acima, e em 14% em Santo Antônio do Rio Doce, chegando a 40 vezes acima do VR. Porém, ao comparar com a média (22,28  $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) de um grupo exposto ocupacionalmente (GIL *et al.*, 2011), todos os resultados do presente trabalho foram menores.

O Pb é um dos contaminantes ambientais que podem causar sérios danos à saúde humana, afetando os sistemas neurológicos, hematológicos, gastrointestinal, cardiovascular, habilidades motoras e executivas (MASON; HARP; HAN, 2014). A principal via de exposição de indivíduos não ocupacionalmente expostos é pelo consumo de alimentos (LIU *et al.*, 2010).

Além dos elementos tóxicos também foram determinados os elementos químicos essenciais (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Se, Zn) no sangue total (TAB. 28), no soro (TAB. 29), na urina (TAB. 30) e na urina com correção da creatinina (TAB. 31) das três localidades. Os valores obtidos foram comparados com estudos de biomonitoramento em outras regiões do Brasil, pela ATSDR e pelo grupo controle. As diferenças significativas entre as concentrações de elementos químicos pelas localidades foram identificadas pelo teste de Kruskal-Wallis e são informadas em cada uma das tabelas.

**Tabela 28 – Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de sangue total em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Co	Cr	Cu	Mn	Se	Zn
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	0,95±0,15	33,59±73,88	746,99±123,16	26,22±2,81	74,87±16,87	4768,11±521,85
	Mediana	0,93*	2,56*	724,96	25,90*	74,02	4901,87
	Mínimo	0,70	0,58	524,59	21,89	42,58	3669,08
	Máximo	1,19	213,20	931,37	29,87	101,26	5450,06
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	<LQ	0,68±3,62	1055,02±339,78	<LQ	92,03±36,24	5921,57±1764,75
	Mediana	<LQ	<LQ	997,19*	<LQ	86,39*	5765,34*
	Mínimo	<LQ	<LQ	410,91	<LQ	34,07	3174,06
	Máximo	<LQ	32,35	2234,01	7,26	248,58	13497,03
	P95	<LQ	2,53	1860,33	<LQ	165,17	9951,83
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	0,06±0,14	1,07±2,81	857,03±248,73	2,26±5,25	60,31±29,65	5171,78±1358,48
	Mediana	<LQ	<LQ	857,62	<LQ	55,29	5175,18
	Mínimo	<LQ	<LQ	345,93	<LQ	11,85	2924,47
	Máximo	0,70	14,26	1594,64	21,12	141,49	10897,07
	P95	0,47	8,84	1428,02	16,07	117,65	7440,01
<b>Valor de Referência</b>		0,0005 - 2,09 <sup>1</sup>		495 - 1578 <sup>1,2</sup>	6,9 - 18,4 <sup>2,3</sup>	68 - 245 <sup>2</sup>	3518 - 12294 <sup>1</sup>

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup>Rodrigues *et al.* (2009); <sup>2</sup>Nunes *et al.* (2010); <sup>3</sup>Freire *et al.* (2015).

**Tabela 29 – Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de soro em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Se	Zn
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	0,11±0,04	1,29±2,88	834,58±169,40	1337,34±247,46	2,08±1,52	79,55±8,30	288,18±59,13
	Mediana	0,11	<LQ	781,95	1399,67*	1,64	78,93	318,03
	Mínimo	<LQ	<LQ	651,75	963,31	0,91	68,20	193,21
	Máximo	0,19	8,38	1136,30	1606,48	5,45	91,52	333,77
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	0,17±0,16	7,57±21,86	906,82±297,37	859,92±307,54	2,58±1,96	84,44±18,15	334,72±135,08
	Mediana	0,14	0,28*	844,78	862,36	2,45	84,19	311,52
	Mínimo	<LQ	<LQ	325,15	154,96	0,14	44,83	75,37
	Máximo	1,51	125,85	1936,88	2270,24	13,57	138,05	629,47
	P95	0,31	67,23	1517,27	1397,21	5,41	113,97	586,69
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	0,26±0,19	1,74±8,45	988,35±347,17	1266,39±549,23	2,16±1,71	94,01±27,63	450,07±149,36
	Mediana	0,20	<LQ	884,99	1053,90	2,01	92,16	438,43
	Mínimo	<LQ	<LQ	531,46	647,89	<LQ	51,33	181,54
	Máximo	0,94	55,94	2054,71	3351,86	10,73	209,45	994,23
	P95	0,76	10,88	1869,23	2235,39	5,30	143,39	699,25
<b>Valor de Referência</b>		0,13 - 0,18 <sup>2</sup>	0,10-0,16 <sup>1</sup> 1,83-2,11 <sup>2</sup>	855,5 - 1545 <sup>2</sup>		0,47 - 0,64 <sup>2</sup>		1000 <sup>1</sup> 649,1 - 770,7 <sup>2</sup>

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> ATSDR (2007); <sup>2</sup>Rocha *et al.* (2016b).

**Tabela 30 – Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Se
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	0,31±0,18	0,43±0,58	24,19±	7,79±8,26	3,35±1,13	<LQ
	Mediana	0,32	0,14	27,04	8,06	3,17*	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,69	<LQ
	Máximo	0,53	1,84	32,04	16,66	5,52	<LQ
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	0,37±0,28	2,29±8,12	51,02±134,88	27,53±45,58	1,29±1,26	11,24±10,33
	Mediana	0,30	0,11	36,02	9,50	0,94	7,22
	Mínimo	<LQ	<LQ	26,28	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	1,35	80,90	1390,47	420,01	7,27	58,01
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	0,56±0,53	2,40±5,39	27,33±19,04	20,75±23,67	2,07±1,28	15,60±14,25
	Mediana	0,22	0,45	20,27	14,43	2,03	9,70
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	2,69	31,13	90,15	112,72	5,10	64,45
<b>Valor de Referência</b>		0,32 - 3,70 <sup>2</sup>	0,22 <sup>1</sup> 1,68-3,35 <sup>3</sup>	25,63-31,04 <sup>3</sup>		1,19 <sup>1</sup> 0,5-4,4 <sup>2</sup>	5,2 - 98,9 <sup>2</sup>

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> ATSDR (2007); <sup>2</sup>Rocha *et al.* (2016b);

<sup>3</sup>Batista *et al.* (2009c).



**Tabela 31 – Concentração dos elementos essenciais ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) em amostras de urina em Ilha das Pimentas, Santo Antônio do Rio Doce e Teófilo Otoni com os valores de referência**

Localidade	Variáveis	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Se
<b>Ilha das Pimentas</b>	Média±DP	0,22±0,28	0,19±0,20	26,80±27,92	5,44±6,19	3,40±3,40	<LQ
	Mediana	0,05	0,10	21,05*	3,18	2,95*	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,20	<LQ
	Máximo	0,73	0,53	79,83	17,20	10,58	0,16
<b>Santo Antônio do Rio Doce</b>	Média±DP	0,09±0,13	0,56±4,19	30,13±32,20	4,99±13,60	0,39±0,53	2,75±6,90
	Mediana	0,03	<LQ	<LQ	<LQ	0,26	<LQ
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	0,86	41,91	185,03	118,84	3,24	56,63
	P95	0,32	1,57	93,21	20,79	1,37	11,24
<b>Teófilo Otoni</b>	Média±DP	0,16±0,32	0,48±0,64	<LQ	6,31±7,44	0,78±0,88	5,99±10,92
	Mediana	0,03	0,22	<LQ	3,33	0,52	0,57
	Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Máximo	1,68	2,38	37,20	30,26	3,91	58,75
	P95	1,12	2,28	29,28	29,37	3,02	27,29
<b>Valor de Referência</b>		0,18 - 0,32 <sup>1</sup>	1,6-2,5 <sup>1</sup>	22,8-30,23 <sup>1</sup>		0,8-1,2 <sup>1</sup>	

\* teste de Kruskal-Wallis; DP: desvio-padrão; LQ: Limite Quantificação; <sup>1</sup> Rocha *et al.* (2016b).

Os valores de Co no sangue, em ambas as localidades estão com valores normais, porém as concentrações no soro e na urina corrigida foram menores em 62% e 15% respectivamente dos participantes de Ilha das Pimentas e em 41% e 8% respectivamente de Santo Antônio do Rio Doce. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo controle teve a maior mediana no soro ( $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Cobalto é tão essencial para humanos por ser um componente integral do complexo de vitamina B12. Sua deficiência é semelhante à deficiência desta vitamina, com sintomas como anemia e distúrbios do sistema nervoso (GÁL *et al.*, 2008), e a exposição excessiva ao Co é associada a eritrocitose (JEFFERSON *et al.*, 2002).

Os valores de Cr no sangue tiveram uma grande variação na Ilha das Pimentas ( $0,58-213,20 \mu\text{g L}^{-1}$ ), com um único valor acima do VR no soro e todas as concentrações na urina abaixo do VR. Já em Santo Antônio do Rio Doce, no sangue houve uma variação menor ( $<LQ-32,35 \mu\text{g L}^{-1}$ ), 80% e 96% dos voluntários apresentaram concentração de Cr no soro e urina abaixo do VR respectivamente. Este resultado pode estar relacionado à alimentação, pois o Cr é um elemento essencial presente em alguns cereais, vegetais e frutas (GIL *et al.*, 2011). Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle,

onde a região caso teve a maior mediana no soro ( $0,26 \mu\text{g L}^{-1}$ ), e o grupo controle teve maior mediana para urina ( $0,22 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina).

O Cr (III) é um mineral essencial e tem sido achado no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, e sua ingestão insuficiente está associada a diabetes e doenças cardiovasculares. Porém o Cr (VI) é altamente tóxico, e causa inúmeras complicações respiratórias (LANGRIRD, 1990).

Quanto às concentrações de Fe no soro e urina na Ilha das Pimentas houve pouca variação ( $963,31-1606,48 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e ( $<LQ-17,20 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) respectivamente, porém em Santo Antônio do Rio Doce esta variação foi mais discrepante no soro ( $154,96 - 2270,24 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e na urina ( $<LQ-118,84 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina). Ao comparar com a concentração média da urina ( $40,50 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina;  $87,7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) de um grupo exposto ocupacionalmente (FREIRE *et al.*, 2020), todos os nossos valores encontrados na urina foram menores, exceto em um único voluntário em Santo Antônio do Rio Doce. Em geral, o ferro sérico normal é entre  $750$  a  $1500 \mu\text{g L}^{-1}$  nos homens e entre  $600$  a  $1400 \mu\text{g L}^{-1}$  nas mulheres (MORETTI *et al.*, 2015), onde 22% dos voluntários de Santo Antônio do Rio Doce apresentaram resultados menores no soro. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo controle teve a maior mediana no soro ( $1053,90 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e na urina ( $3,33 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina).

A deficiência de Fe está frequentemente associada à anemia e, portanto, à redução da capacidade para o trabalho, problemas na gravidez e ao comprometimento do desenvolvimento intelectual (SCHÜMANN *et al.*, 2007). O Fe é fundamental para as funções biológicas, como a respiração, produção de energia, síntese de DNA e proliferação celular (CAMASCHELLA, 2015). Porém seu excesso pode provocar lesão na mucosa gastrointestinal, resultando em náusea, vômito, dor abdominal e diarreia (ALDRIDGE, 2007).

As medianas dos valores de Cu no sangue em ambas as localidades estavam dentro do VR, porém as concentrações no soro (62,5%) e na urina corrigida (50%) dos voluntários da Ilha das Pimentas apresentaram baixos valores, assim como os resultados de soro (52%) e urina (58%) em Santo Antônio do Rio Doce. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo caso teve a maior mediana no sangue ( $975,70 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e na urina ( $17,54 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina).

O Cu é importante no processo de transferência biológica de elétrons e é vital para a síntese de hemácias, metabolismo de lipoproteínas e função do sistema nervoso. A

deficiência de Cu em adultos pode resultar em distúrbios do sangue e do sistema nervoso (DABBAGHMANESH *et al.*, 2011).

Foi observado concentrações de Mn no sangue e soro acima do VR em todos os participantes de Ilha das Pimentas e em 62,5% na urina corrigida. Já em Santo Antônio do Rio Doce 99% e 88% dos voluntários apresentaram resultado de Mn no sangue e urina corrigida abaixo do VR, porém 91% tiveram a concentração no soro maior que o VR. No trabalho de Paulelli (2019), os participantes das comunidades do Espírito Santo apresentaram concentrações maiores no sangue ( $5,16 - 46,7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e na urina ( $<LQ - 33,1 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina). Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo controle apresentou a maior mediana na urina ( $0,52 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina).

O Mn é encontrado em todos os tecidos, é essencial para o desenvolvimento, reprodução, resposta imune, digestão, regulação das atividades neuronais, crescimento ósseo e até antioxidante celular (ASCHNER; ASCHNER, 2005). Em elevada quantidade tende a se concentrar nos ossos, pâncreas, fígado e cérebro, podendo apresentar o manganismo (CHEN; BORNHORST; ASCHNER, 2018).

Somente um participante em Ilha das Pimentas apresentou concentração abaixo do VR para Se no sangue e em 26% dos participantes em Santo Antônio do Rio Doce. No estudo Ghayour-Mobarhan *et al.* (2005) as concentrações de Se no soro apresentaram as variações  $82,19-92,45 \mu\text{g L}^{-1}$ , que ao serem comparadas com o presente estudo, percebe-se que todos os voluntários de Ilha das Pimentas e em 47% dos voluntários de Santo Antônio do Rio Doce estavam com as concentrações de Se menores. No trabalho de Paulelli (2019), as médias de Se no sangue e urina foram de  $108 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $23,4 \mu\text{g g}^{-1}$  creatinina respectivamente, que foram maiores quando comparados ao presente estudo. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo caso teve a maior mediana no sangue ( $84,66 \mu\text{g L}^{-1}$ ), e o grupo controle apresentou a maior mediana no soro ( $92,16 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

O Se é essencial para o crescimento, desenvolvimento e metabolismo. Foi reconhecido como antioxidante celular (protegendo as membranas celulares contra danos dos radicais livres) e agente protetor contra elementos tóxicos, câncer e doenças cardiovasculares. A deficiência de Se está associada a um declínio na função imune e problemas cognitivos (AL-SALEH, 2000). No entanto o Se pode também ser tóxico se ingerido em excesso, acima de  $400 \mu\text{g}/\text{dia}$ , e os sintomas comuns incluem distúrbios gastrointestinais, perda de cabelo, descamação das unhas, danos neurológicos e fadiga

(HERNÁNDEZ-MENDOZA; RIOS-LUGO, 2009). Em formas reduzidas, o Se é relativamente insolúvel e imóvel, portanto, representa pouco perigo para os organismos. No entanto, em formas oxidadas, particularmente Se (VI), é móvel em meio aquoso e representa um risco significativo para os organismos (BROWN; FOSTER; OSTERGREN, 1999).

O último elemento químico essencial estudado foi o Zn, que apresentou concentrações dentro do VR no sangue de ambas as localidades, exceto em um único participante de Santo Antônio do Rio Doce. Porém, as concentrações de Zn no soro dos dois locais de estudos foram menores que o VR. Houve diferença estatística ao analisar o estudo caso x controle, onde o grupo caso teve a maior mediana no sangue ( $5615,60 \mu\text{g L}^{-1}$ ), e o grupo controle apresentou a maior mediana no soro ( $438,43 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

O Zn é importante na nutrição humana e cumpre muitas funções bioquímicas no metabolismo humano. A deficiência de Zn no organismo humano leva a vários distúrbios, levando um impacto prejudicial no crescimento e resistência à insulina, mas sua ingestão excessiva pode causar efeitos neurológicos (SCHERZ; KIRCHHOFF, 2006).

Os metais entram no organismo essencialmente por duas vias: a inalatória e a digestiva. A absorção pela via digestiva depende principalmente de fatores relacionados com a alimentação, como o estado de jejum e a ingestão de proteínas (PERAZA *et al.*, 1998), além de ser influenciado pela idade, estado fisiológico e fatores genéticos (MASSADEH *et al.*, 2010). O impacto dos metais que causam risco à saúde humana depende da concentração, toxicidade e biodisponibilidade, ou seja, até que ponto eles são absorvidos pelo sangue ou armazenados em órgãos internos. A toxicidade e biodisponibilidade de um metal, por sua vez, dependem em parte da reatividade e solubilidade, que são determinados pela especiação ou forma química do elemento (BROWN; FOSTER; OSTERGREN, 1999).

A urina retrata a concentração que está sendo espontaneamente excretado pelo organismo, e o sangue indica a dose que está sendo acumulada. Desta forma, os resultados de concentrações de elementos químicos no sangue e urina normalmente estão em distintas ordens de magnitude, indicando um maior acúmulo ou excreção de certos elementos (FREIRE *et al.*, 2021). E como o soro é o plasma sem fibrinogênio, ou seja, uma parte do sangue total, as concentrações dos elementos químicos no soro podem ser menores que no sangue total. Por exemplo, neste estudo as concentrações médias de As, Co, Cr, Cu e Se no sangue foram maiores que as concentrações médias encontradas na urina e/ou soro.

Vale lembrar que cada metal tem seu metabolismo, por exemplo: a excreção urinária de Cd é um indicador de exposição ao longo da vida, ao passo que no As, Cu, Ni e Pb indicam exposição recente (WANG *et al.*, 2018); concentrações baixas de Fe na urina têm sido encontrados em indivíduos saudáveis, por ser um elemento essencial que permanece na homeostase (WU; LIU, 2014); cerca de 75% da dose de As absorvida é excretada na urina dentro de 1-3 dias, embora isso possa variar com a dose e a duração da exposição (ATSDR, 2007); compostos orgânicos de As causam concentrações elevadas de arsênio no sangue, mas são rapidamente excretados inalterados na urina (HAN *et al.*, 1998); As e Pb tem sua maior concentração nas células vermelhas do sangue, e comparado com a urina, o sangue é um indicador muito menos sensível de exposição recente ao As (GOYER; CLARKSON, 1996).

#### **4.4.2 Sexo e faixa etária**

A influência do sexo nas concentrações dos elementos químicos nas diferentes matrizes biológicas foi avaliada por grupo de estudo (caso e controle) (TAB. 32). Foi possível perceber que em seis elementos (As, Cd, Co, Cu, Pb e Zn) houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os sexos.

As concentrações no sangue de As e Cu foram maiores nas mulheres, enquanto Pb e Zn maiores nos homens. Essas diferenças das concentrações de Cu e Zn também foi encontrada no trabalho de Rodrigues *et al.* (2009), e do Cu e Pb nos estudos de Benes *et al.* (2005), Nunes *et al.* (2010) e Takeda *et al.* (2017). Normalmente as mulheres exibem concentrações de Pb menores, o que pode ser devido às menores exposições, menores níveis de hematócritos e diferenças no metabolismo do Pb (BATÁRIOVÁ *et al.*, 2006).

No soro, a concentração do Co e Cu também foram maiores nas mulheres e o Cd maior nos homens. Padrões semelhantes do Cu no soro são frequentemente relatados em diferentes estudos (GHAYOUR-MOBARHAN *et al.*, 2005; KILINC *et al.*, 2010; ROCHA *et al.*, 2016b). Essa diferença é esperada, pois é sabido que as mulheres, principalmente entre 20 a 60 anos, têm maior absorção de Cu e também níveis mais elevados de ceruloplasmina sérica, uma proteína de ligação ao Cu. Os estrogênios, ainda mais quando os anticoncepcionais são usados, também influenciam diretamente o metabolismo do Cu, contribuindo para o aumento das concentrações plasmáticas desse metal (ARREDONDO *et al.*, 2010; KILINC *et al.*, 2010).

**Tabela 32 – Concentração dos elementos químicos em amostras de sangue total ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), soro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e urina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  creatinina) por grupo de estudo e sexo**

Elementos químicos	Grupo de estudo	Sexo	N	Mediana	$p^*$	Média	Mínimo	Máximo
<b>As (sangue)</b>	Caso	Feminino	43	2,85*	0,014	12,55	<LQ	60,36
		Masculino	65	0,71		7,64	<LQ	88,49
	Controle	Feminino	24	16,45*	0,041	19,79	4,91	45,88
		Masculino	26	7,79		17,27	<LQ	93,80
<b>As (urina)</b>	Caso	Feminino	43	0,05	0,002	1,53	<LQ	33,18
		Masculino	65	1,38*		3,86	<LQ	28,79
	Controle	Feminino	24	0,15	0,001	1,09	<LQ	6,48
		Masculino	26	2,80*		5,38	<LQ	20,61
<b>Cd (soro)</b>	Caso	Feminino	43	1,15	0,044	1,41	<LQ	7,20
		Masculino	65	1,28*		1,80	<LQ	16,85
	Controle	Feminino	24	0,40	0,615	1,26	<LQ	5,62
		Masculino	26	<LQ		1,54	<LQ	15,03
<b>Co (soro)</b>	Caso	Feminino	43	0,15*	0,034	0,18	<LQ	0,78
		Masculino	65	0,13		0,15	<LQ	1,51
	Controle	Feminino	24	0,26	0,052	0,29	<LQ	0,79
		Masculino	26	0,17		0,24	<LQ	0,94
<b>Cu (sangue)</b>	Caso	Feminino	43	1047,88	0,051	1143,12	620,31	2234,01
		Masculino	65	955,46		958,81	410,91	1833,62
	Controle	Feminino	24	920,64*	0,020	930,89	345,93	1594,64
		Masculino	26	763,37		788,86	530,29	1434,02
<b>Cu (soro)</b>	Caso	Feminino	43	1010,89*	<0,001	1095,22	502,89	1936,88
		Masculino	65	763,84		773,29	325,15	1241,87
	Controle	Feminino	24	1012,86*	0,006	1153,82	633,55	2054,71
		Masculino	26	835,35		835,60	531,46	1151,45
<b>Zn (sangue)</b>	Caso	Feminino	43	5042,37	0,005	5472,21	3230,53	12076,00
		Masculino	65	5867,19*		6076,86	3174,06	13497,03
	Controle	Feminino	24	4694,66	0,060	4846,10	2924,47	8035,55
		Masculino	26	5610,32		5472,41	3354,08	10897,07
<b>Pb (sangue)</b>	Caso	Feminino	43	5,78	<0,001	12,22	<LQ	54,63
		Masculino	65	23,58*		33,92	<LQ	237,43
	Controle	Feminino	24	8,93	0,002	9,34	<LQ	30,95
		Masculino	26	21,07*		22,27	<LQ	56,91

LQ: Limite Quantificação; n: número amostral; \*teste U Mann-Whitney

Nas amostras de urina, somente o As teve diferença estatística significativa, apresentando sua maior concentração nos homens. Essas descobertas podem ser explicadas pelas diferenças entre homens e mulheres tanto nos hábitos alimentares quanto na absorção de elementos (KILINC *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2009).

No caso da influência da faixa etária nas concentrações dos elementos químicos nas diferentes matrizes biológicas por grupo de estudo (caso e controle), houve significância estatística ( $p < 0,05$ ) em cinco elementos (Cd, Co, Pb, Se, Zn) (TAB. 33).

**Tabela 33 – Concentração dos elementos químicos ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de sangue total e soro por grupo de estudo e faixa etária**

Elementos químicos	Grupo de estudo	Faixa Etária	n	Mediana	$p^*$	Média	Mínimo	Máximo
<b>Cd (soro)</b>	Caso	18-29	21	1,23	0,343	0,21	<LQ	1,51
		30-39	22	1,35		2,02	<LQ	7,20
		40-49	35	1,20		1,48	<LQ	5,10
		50-59	30	1,22		1,24	<LQ	2,74
	Controle	18-29	9	<LQ	0,032	0,35	<LQ	2,71
		30-39	18	1,97*		1,83	<LQ	6,45
		40-49	9	<LQ		0,54	<LQ	2,47
		50-59	14	<LQ		2,11	<LQ	15,03
<b>Co (soro)</b>	Caso	18-29	21	0,14	0,763	0,21	<LQ	1,51
		30-39	22	0,13		0,14	<LQ	0,31
		40-49	35	0,14		0,17	<LQ	0,78
		50-59	30	0,14		0,14	<LQ	0,25
	Controle	18-29	9	0,18	0,022	0,17	<LQ	2,71
		30-39	18	0,26*		0,31	<LQ	0,79
		40-49	9	0,15		0,17	0,10	0,42
		50-59	14	0,24		0,33	0,15	0,94
<b>Pb (sangue)</b>	Caso	18-29	21	25,51	0,395	24,37	<LQ	63,44
		30-39	22	16,62		21,16	<LQ	92,30
		40-49	35	17,26		30,01	<LQ	237,43
		50-59	30	21,69		23,43	<LQ	78,35
	Controle	18-29	9	20,43	0,035	21,12	<LQ	46,32
		30-39	18	8,49		10,93	<LQ	52,33
		40-49	9	21,13*		23,25	8,65	56,91
		50-59	14	14,70		14,79	<LQ	45,93

LQ: Limite Quantificação; n: número amostral; \*teste Kruskal-Wallis

Continuação Tabela 33

Elementos químicos	Grupo de estudo	Faixa Etária	n	Mediana	p*	Média	Mínimo	Máximo
Se (soro)	Caso	18-29	21	70,06	0,001	72,12	49,42	117,55
		30-39	22	78,52		81,58	44,83	124,21
		40-49	35	91,32*		91,10	61,30	138,05
		50-59	30	86,78		86,08	63,25	113,34
	Controle	18-29	9	91,52	0,461	84,90	56,97	102,18
		30-39	18	89,50		88,58	51,33	151,69
		40-49	9	90,60		95,87	81,93	119,23
		50-59	14	98,57		105,64	275,84	994,23
Zn (soro)	Caso	18-29	21	250,43	0,033	259,36	75,37	479,46
		30-39	22	329,61*		328,62	103,70	601,26
		40-49	35	326,11		364,46	187,26	629,47
		50-59	30	298,47		344,83	109,89	611,67
	Controle	18-29	9	438,46	0,690	411,91	217,04	589,81
		30-39	18	432,43		433,01	181,54	676,75
		40-49	9	437,43		436,22	270,58	629,97
		50-59	14	484,45		505,43	275,84	994,23

LQ: Limite Quantificação; n: número amostral; \*teste Kruskal-Wallis

É sabido que a concentração dos elementos químicos nas pessoas depende de fatores relacionados com a alimentação, ingestão de proteínas (PERAZA *et al.*, 1998), estado fisiológico, fatores genéticos, além da idade (MASSADEH *et al.*, 2010). Neste estudo, houve significância estatística nas concentrações dos elementos químicos em duas faixas etárias, entre 30-39 e 40-49 anos. Na primeira, a mediana foi maior para o Cd, Co e Zn no soro, enquanto na segunda faixa etária a mediana foi superior para o Se no soro e Pb no sangue.

Cabe citar que ao estudar as medianas dos elementos químicos por faixa etária e compará-los com os valores de referências brasileiros, o Cd no sangue foi acima do VR somente nos mais jovens (18-39 anos) enquanto o Se no soro foi abaixo nesta mesma faixa etária. Já os elementos Zn no soro, Co e Cu na urina foram menores que o VR em todas as categorias de idade. Somente o Al no soro que teve a mediana acima em todos os intervalos de idade.



#### 4.4.3 Influência da idade, consumo de álcool, cigarro e peixe

O teste de correlação Spearman apresentou uma série de correlações significativas entre os elementos químicos no sangue, soro e urina (creatinina corrigida) da população de estudo que são apresentadas na Tabela 34.

**Tabela 34 – Correlação entre a idade, consumo de cigarro, bebida alcoólica e peixe com os elementos químicos**

Elemento químico	Variável	r	p*
<b>As</b>	consumo de cigarro X As sangue	0,242	0,012
	consumo de peixe X As sangue	0,228	0,022
<b>Ba</b>	consumo de cigarro X Ba soro	0,235	0,015
<b>Cd</b>	consumo de cigarro X Cd soro	-0,233	0,015
	consumo de cigarro X Cd urina	0,215	0,026
<b>Cu</b>	consumo de cigarro X Cu sangue	-0,216	0,024
	bebida alcoólica X Cu sangue	-0,186	0,044
<b>Co</b>	consumo de cigarro X Co sangue	0,350	<0,0001
	consumo peixe X Co sangue	0,208	0,038
<b>Cr</b>	consumo de cigarro X Cr sangue	0,384	<0,0001
	bebida alcoólica X Cr sangue	0,204	0,034
	consumo peixe X Cr sangue	0,223	0,026
<b>Fe</b>	idade X Fe urina	0,212	0,028
	consumo de cigarro X Fe soro	0,293	0,002
	consumo peixe X Fe soro	0,245	0,014
<b>Hg</b>	idade X Hg urina	0,219	0,019
	consumo de cigarro X Hg sangue	0,205	0,034
	consumo peixe X Hg sangue	0,268	0,007
<b>Mn</b>	consumo de peixe X Mn sangue	0,206	0,04
	consumo de cigarro X Mn sangue	0,313	0,001
	consumo de cigarro X Mn urina	0,196	0,042
<b>Ni</b>	consumo de cigarro X Ni sangue	0,364	<0,0001
	bebida alcoólica X Ni soro	0,233	0,015
	consumo peixe X Ni sangue	0,242	0,015
<b>Pb</b>	consumo de cigarro X Pb sangue	0,307	0,010
	bebida alcoólica X Pb sangue	0,204	0,034
	consumo peixe X Pb sangue	0,197	0,049
<b>Se</b>	idade X Se soro	0,233	0,015
	consumo peixe X Se soro	0,022	0,044
<b>Zn</b>	idade X Zn soro	0,241	0,012

r: coeficiente de correlação; \*teste de correlação Spearman

Sabe-se que a disponibilidade do metal diminui com o envelhecimento do ser humano, pois a alimentação costuma diminuir em qualidade e também devido à diminuição da absorção intestinal. Isso acontece principalmente dos elementos essenciais como Cu, Mn e Zn (HOLT, 2007). Contudo, neste estudo houve correlação positiva, porém fraca, entre a idade com Fe e Hg na urina, Se e Zn no soro.

O cigarro afeta as concentrações de metais nos fluidos corporais (KIM; KIM; KHO, 2010), e neste estudo o consumo de cigarro teve a maior quantidade de correlação nas três matrizes biológicas: As, Cu, Co, Cr, Hg, Mn, Ni e Pb no sangue; Ba, Cd e Fe no soro; Cd e Mn na urina, onde somente Cd no soro e Cu no sangue foram correlações negativas. A literatura relaciona a alta concentração de Ni em cigarros, o que depende também do seu tipo e origem (NORDBERG *et al.*, 2007). Já a bebida alcoólica teve correlação em duas matrizes: Cu, Cr, Pb no sangue; Ni no soro, observando uma correlação negativa somente para Cu no sangue. Por último, para o consumo de peixe houve correlação positiva no sangue para As, Co, Cr, Hg, Mn, Ni e Pb, e no soro para Fe e Se. A principal correlação foi observada entre Cr e o consumo de cigarro no sangue.

Outros trabalhos também encontraram correlação positiva do Pb no sangue, quanto ao consumo de peixe e hábito de fumar (KIRA *et al.*, 2016; MASSADEH *et al.*, 2010; TAKEDA *et al.*, 2017); Cd na urina (BATISTA *et al.*, 2009c) e Cu no sangue (MASSADEH *et al.*, 2010) com o hábito de fumar. Embora em vários estudos correlacionem o aumento do Cd no sangue de fumantes (FREIRE *et al.*, 2015; GIL *et al.*, 2011; KIRA *et al.*, 2016), no nosso estudo este aumento foi observado somente na urina. Porém Massadeh *et al.* (2010) relata que as concentrações de Cd no sangue de fumantes dependem do número de cigarros fumados por dia e do tipo, já que dependendo da marca há uma variação na concentração do metal no cigarro.

Em outros estudos também foi relatado o aumento o Pb no sangue com a ingestão de bebida alcoólica, sendo que a mesma parece facilitar a absorção do Pb no corpo (ALIMONTI *et al.*, 2005; APOSTOLI, 2002; FORTE *et al.*, 2011). Além disso, nos trabalhos de McKelvey *et al.* (2007) e Kira (2014) encontraram associação do consumo de peixe com aumento das concentrações de Hg e Ni no sangue respectivamente.

A análise de regressão logística bivariada envolveu as variáveis dependentes (concentrações de As, Co, Cu, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb no sangue; Fe e Se no soro) e as variáveis independentes (idade, consumo de peixe, cigarro, bebida alcoólica). Dessa

forma, foi estimada a probabilidade das variáveis independentes em interferir nas concentrações dos elementos químicos.

Ao avaliar o Mn no sangue, o hábito de fumar interfere no aumento da sua concentração ( $p=0,033$ ), enquanto que o mesmo não é afetado no consumo de peixe ( $p=1,0$ ). Já a concentração de Ni no sangue não sofre interferência do consumo de cigarro ( $p=0,203$ ) e nem no consumo de peixe ( $p=0,510$ ). No caso dos elementos químicos As, Cu e Pb no sangue, a regressão não prosseguiu pois  $p>0,05$ .

Como os valores de Co e Hg no sangue estão dentro do valor da referência brasileira, não foi realizada a regressão logística. Já os valores do Cr no sangue, Fe e Se no soro, não tem valor de referência brasileira, por isso não foi realizada a regressão logística.



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo constatou que os moradores das regiões afetadas pelo rompimento da barragem de Fundão mantiveram hábitos de consumo de peixe do rio Doce mesmo após o desastre, ainda que tenha sido levemente reduzido em Santo Antônio do Rio Doce. Contudo, mesmo verificando altas concentrações de Se e Fe no tecido muscular dos peixes, a estimativa da ingestão diária demonstrou que todos os elementos avaliados não constituem risco a saúde humana para as comunidades.

Ainda que o consumo dos peixes estudados não ofereça risco à população, o estudo demonstrou que Al, Ba, Cr, Fe, Mn, Se e Zn nas brânquias estão acima dos valores máximos permitidos e em comparação à estudos anteriores em outras regiões geográficas. Isso oferece uma possibilidade de indicador de poluição ambiental.

O estudo constatou que as concentrações dos elementos químicos na água do Rio Doce estão dentro dos valores normais, o que vai ao encontro do percentual baixo de micronúcleos e anormalidades nucleares encontrados nos peixes, evidenciando ausência de dano genotóxico. Não obstante, as amostras de água e lama em Governador Valadares também apresentaram concentrações dentro dos valores estabelecidos da resolução vigente e em comparação com o rejeito depositado em Fundão.

Mesmo após quatro anos do maior desastre ambiental no Brasil, o trabalho encontrou elevada concentração de elementos tóxicos na população, como As e Ni no sangue; Cd no sangue e urina; Al no soro, com exposição mais acentuada dos participantes da Ilha das Pimentas. Quanto aos elementos essenciais, foi encontrada menor concentração do Se, Zn no soro; Cu, Cr e Fe no soro e urina; e Co na urina das duas regiões.

O sexo influenciou nas concentrações de As, Cd, Cu, Co, Pb e Zn. Além disso, os resultados dos elementos químicos no sangue, soro e urina apresentaram correlações significativas se consideradas a idade e hábitos como o consumo de cigarro, bebida alcoólica e peixe. A principal correlação foi observada entre Cr no sangue e o consumo de cigarro.

Este é o primeiro estudo nessas regiões após o desastre ambiental, logo deve-se chamar atenção para a necessidade de confirmação do diagnóstico, investigação clínica e eventual necessidade de tratamento da população afetada. Os resultados deste estudo podem ser usados para fins comparativos em estudos futuros.



## REFERÊNCIAS

- ABDELBAGI, A. M. et al. Biomonitoring of occupational exposure to heavy metals in metallurgical factories in Khartoum state, Sudan. **Fresenius Environ Bull**, v. 22, n. 12a, p. 3625-3631, 2013.
- AGUIAR, G. D. F. M. **Avaliação de métodos empregando a espectrometria de massas com plasma acoplado (ICP-MS) para determinação de impurezas elementares e especiação química de arsênio e mercúrio em fármacos e excipientes**. 2017. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- AHRENS, W.; PIGEOT, I. **Handbook of epidemiology**. 2ª ed. New York, NY: Springer, 2014. 1639p.
- AL-SABTI, K.; METCALFE, C. D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 343, n. 2-3, p. 121-135, 1995.
- AL-SALEH, I. Selenium status in Saudi Arabia. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 14, n. 3, p. 154-160, 2000.
- ALDRIDGE, M. D. Acute iron poisoning: what every pediatric intensive care unit nurse should know. **Dimensions of critical care nursing**, v. 26, n. 2, p. 43-48, 2007.
- ALIMONTI, A. et al. Assessment of reference values for selected elements in a healthy urban population. **Ann Ist Super Sanita**, v. 41, n. 2, p. 181-187, 2005.
- ANA. Encarte Especial sobre a Bacia do Rio Doce: Rompimento da Barragem em Mariana/MG. 2016. Disponível em: <  
[http://arquivos.ana.gov.br/RioDoce/EncarteRioDoce\\_22\\_03\\_2016v2.pdf](http://arquivos.ana.gov.br/RioDoce/EncarteRioDoce_22_03_2016v2.pdf)>. Acesso em: 29 set 2019.
- ANDERSON, D. R.; SWEENEY, D. J.; WILLIAMS, T. A. **Estatística aplicada à administração e economia**. 2ª ed. São Paulo: Cengage Learning 2007.
- ANGÊNCIABRASIL. Enchentes em rios afetados por lama da Samarco e da Vale preocupam MP. 2020. Disponível em: <  
<https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2020-02/enchentes-em-rios-afetados-por-lama-da-samarco-e-da>>. Acesso em: 25 out 2020.
- ANGERER, J.; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring: state of the art. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 210, n. 3-4, p. 201-228, 2007.
- ANVISA. Resolução RDC nº 359, Aprova regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 1-8, 2003.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 269, Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 1-6, 2005.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 42, Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimento. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2013.

\_\_\_\_\_. Instrução Normativa - IN Nº 28, Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. **Diário Oficial da União**, p. 141-142, 2018.

APOSTOLI, P. Elements in environmental and occupational medicine. **Journal of chromatography B**, v. 778, n. 1-2, p. 63-97, 2002.

ARISTIMUNHO, P. B.; BERTOCINI, S. R. Application of iron ore mud in powder form in posartland cement presence. **Revista Ibracon de Estruturas e Materiais**, v. 5, n. 2, p. 153-165, 2012.

ARREDONDO, M. et al. Influence of estrogens on copper indicators: in vivo and in vitro studies. **Biological trace element research**, v. 134, n. 3, p. 252-264, 2010.

ARSLAN, O. Ç. et al. Assessment of micronuclei induction in peripheral blood and gill cells of some fish species from Aliğa Bay Turkey. **Marine Pollution Bulletin**, v. 94, n. 1-2, p. 48-54, 2015.

ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular aspects of medicine**, v. 26, n. 4-5, p. 353-362, 2005.

ATLI, G.; CANLI, M. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 73, n. 8, p. 1884-1889, 2010.

ATSDR. Toxicological Profiles. Atlanta, GA, 2007. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiledocs/index.html>>. Acesso em: 15 set 2020.

AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 467, n. 2, p. 177-186, 2000.

BARANY, E. et al. Inductively coupled plasma mass spectrometry for direct multi-element analysis of diluted human blood and serum. **Journal of analytical atomic spectrometry**, v. 12, n. 9, p. 1005-1009, 1997.

BARBOSA JR, F. et al. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1669-1674, 2005.



- BARR, D. B. et al. Urinary creatinine concentrations in the US population: implications for urinary biologic monitoring measurements. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 2, p. 192-200, 2005.
- BARROS, B. C. V. et al. Determinação de Cd, Cr e Al em tecido de peixes provenientes do Rio Gelado/APA, Floresta de Carajás-PA. **Holos environment**, v. 10, n. 2, p. 195-208, 2010.
- BATÁRIOVÁ, A. et al. Blood and urine levels of Pb, Cd and Hg in the general population of the Czech Republic and proposed reference values. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 209, n. 4, p. 359-366, 2006.
- BATISTA, B. L. **Desenvolvimento de métodos rápidos de preparo de amostras para especiação química de arsênio em alimentos por LC-ICP-MS e avaliação das concentrações e do metabolismo em arroz**. . Dissertação (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2012
- BATISTA, B. L. et al. Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. **Analytica chimica acta**, v. 646, n. 1-2, p. 23-29, 2009a.
- BATISTA, B. L. et al. 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**, v. 639, n. 1-2, p. 13-18, 2009b.
- BATISTA, B. L. et al. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: comparison with ETAAS. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 575-579, 2008.
- BATISTA, B. 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**, v. 20, n. 8, p. 1406-1413, 2009c.
- BENES, B. et al. Effects of age, BMI, smoking and contraception on levels of Cu, Se and Zn in the blood of the population in the Czech Republic. **Central European journal of public health**, v. 13, n. 4, p. 202, 2005.
- BOLOGNESI, C. et al. Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. **Aquatic toxicology**, v. 78, n. 1, p. 93-98, 2006.
- BORBA, R.; FIGUEIREDO, B.; MATSCHULLAT, J. Geochemical distribution of arsenic in waters, sediments and weathered gold mineralized rocks from Iron Quadrangle, Brazil. **Environmental Geology**, v. 44, n. 1, p. 39-52, 2003.
- BROWN, G. E.; FOSTER, A. L.; OSTERGREN, J. D. Mineral surfaces and bioavailability of heavy metals: a molecular-scale perspective. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 7, p. 3388-3395, 1999.

BUENO, A. P. M. et al. Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 32-36, 2017.

BURGER, J. et al. Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors. **Environmental research**, v. 89, n. 1, p. 85-97, 2002.

CAETANO, I. C. D. S.; MARTINS, L. D. A.; MERLINI, L. S. Análise da qualidade da água e dos peixes do lago Aratimbó, Umuarama Pr-Brasil. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 149-157, 2011.

CAMASCHELLA, C. Iron-deficiency anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 19, p. 1832-1843, 2015.

CARDOSO, P. C. D. S. et al. Efeitos biológicos do mercúrio e seus derivados em seres humanos: uma revisão bibliográfica. **Revista Paraense de Medicina**, v. 15, n. 4, p. 51-58, 2001.

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123-2136, 1990.

CASTILHOS, Z. et al. Human exposure and risk assessment associated with mercury contamination in artisanal gold mining areas in the Brazilian Amazon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11255-11264, 2015.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. **Aquatic toxicology**, v. 74, n. 3, p. 264-271, 2005.

CBH-DOCE. A bacia. Governador Valadares, Minas Gerais, 2016. Disponível em: <<http://www.cbhdoce.org.br/institucional/a-bacia>>. Acesso em: 29 out 2019.

CHEN, P.; BORNHORST, J.; ASCHNER, M. A. Manganese metabolism in humans. **Frontiers in Bioscience - Landmark**, v. 23, n. 9, p. 1655-1679, 2018.

CHEYNS, K. et al. Pathways of human exposure to cobalt in Katanga, a mining area of the D.R. Congo. **Science of the Total Environment**, v. 490, n. 1, p. 313-321, 2014.

CONAMA. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Brasília, DF. 2005.

DA SILVA, M. A. M.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Determination of noble metals in biological samples by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, following cloud point extraction. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 10, p. 1941-1949, 2001.

DABBAGHMANESH, M. H. et al. Copper concentration in a healthy urban adult population of southern Iran. **Biological trace element research**, v. 144, n. 1, p. 217-224, 2011.

DAVILA, R. B. et al. Heavy metals in iron ore tailings and floodplain soils affected by the Samarco dam collapse in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 709, n. 1, p. 136-151, 2020.

DE FLORA, S. et al. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed in situ to polluted river water. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 319, n. 3, p. 167-177, 1993.

DE MATOS, A. R.; LOPES, M. L.; DA COSTA, A. S. V. Consumption of treated water in the cities of Governador Valadares and Teófilo Otoni between 2013 and 2017. **International Journal of Geoscience, Engineering and Technology**, v. 1, n. 1, p. 49-53, 2020.

DE MATOS, A. R. et al. Qualidade da água tratada dos municípios atingidos após o rompimento da barragem de Fundão. **Revista Vozes dos Vales**, v. 17, n. 1, p. 1-22, 2020.

DEARFIELD, K. L. et al. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 521, n. 1-2, p. 121-135, 2002.

DEUTSCHMANN, B. et al. Longitudinal profile of the genotoxic potential of the River Danube on erythrocytes of wild common bleak (*Alburnus alburnus*) assessed using the comet and micronucleus assay. **Science of the Total Environment**, v. 573, n. 1, p. 1441-1449, 2016.

DEVESA, V.; VELEZ, D.; MONTORO, R. Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 1-8, 2008.

DIAS, C. A. et al. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. **Revista Espinhaço|UFVJM**, v. 7, n. 1, p. 21-35, 2018.

DOS SANTOS, M. et al. Biomonitoring of trace elements in urine samples of children from a coal-mining region. **Chemosphere**, v. 197, n. 1, p. 622-626, 2018.

DUARTE, I. D. et al. A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 211-219, 2012.

DUDA-CHODAK, A.; BLASZCZYK, U. The impact of nickel on human health. **Journal of Elementology**, v. 13, n. 4, p. 685-693, 2008.

ESPINDOLA, H. S. et al. Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 72-100, 2016.

ESPINDOLA, H. S.; GUERRA, C. B. Desastre da Samarco/Vale/BHP: uma tragédia em diferentes atos. **Revista do Lhiste-Laboratório de Ensino de História e Educação**, v. 4, n. 6, p. 221-235, 2017.

- EWERS, U. et al. Reference values and human biological monitoring values for environmental toxins. **International archives of occupational and environmental health**, v. 72, n. 4, p. 255-260, 1999.
- FAO/WHO. Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the GSCTFF. 2016. Disponível em: < [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-10%252FWD%252Fcf10\\_INF1e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-10%252FWD%252Fcf10_INF1e.pdf) >. Acesso em: 15 jan 2021.
- FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, 2000.
- FENECH, M. et al. Necrosis, apoptosis, cytostasis and DNA damage in human lymphocytes measured simultaneously within the cytokinesis-block micronucleus assay: description of the method and results for hydrogen peroxide. **Mutagenesis**, v. 14, n. 6, p. 605-612, 1999.
- FERRARO, M. V. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 2004.
- FERREIRA, A. P.; WERMELINGER, E. D. Concentrações séricas de metais e suas implicações para a saúde pública. **J. Health Sci. Inst**, v. 31, n. 1, p. 13-19, 2013.
- FILLOL, C. et al. Urinary arsenic concentrations and speciation in residents living in an area with naturally contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 5, p. 1190-1194, 2010.
- FLORES, M.; YAMAGUCHI, M. U. Teste do micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica. **Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 337-340, 2008.
- FORTE, G. et al. Reference intervals for blood Cd and Pb in the general population of Sardinia (Italy). **International journal of hygiene and environmental health**, v. 214, n. 2, p. 102-109, 2011.
- FREIRE, B. M. et al. Occupational exposure to potentially toxic elements in the foundry industry: an integrated environmental and biological monitoring. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2021.
- FREIRE, B. M. et al. Occupational exposure of foundry workers assessed by the urinary concentrations of 18 elements and arsenic species. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 62, n. 1, p. 1-11, 2020.
- FREIRE, B. M. et al. Calibration for the determination of 19 trace elements in serum and urine. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 395-412, 2018.

- FREIRE, C. et al. Reference values of cadmium, arsenic and manganese in blood and factors associated with exposure levels among adult population of Rio Branco, Acre, Brazil. **Chemosphere**, v. 128, n. 1, p. 70-78, 2015.
- FREIRE, C. et al. Reference values of lead in blood and related factors among blood donors in the Western Amazon, Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 77, n. 8, p. 426-440, 2014.
- FREITAS, C. M. D. Avaliação de riscos como ferramenta para a vigilância ambiental em saúde. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 11, n. 4, p. 227-239, 2002.
- FRESCHI, G. P. G. et al. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química**, v. 25, n. 1, p. 213-226, 2000.
- GÁL, J. et al. Cobalt and secondary poisoning in the terrestrial food chain: data review and research gaps to support risk assessment. **Environment international**, v. 34, n. 6, p. 821-838, 2008.
- GHAYOUR-MOBARHAN, M. et al. Determinants of serum copper, zinc and selenium in healthy subjects. **Annals of clinical biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 364-375, 2005.
- GIL, F. et al. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 6, p. 1172-1180, 2011.
- GLOBOG1. Poeira da lama possivelmente formada por rejeitos de minério da Samarco preocupa população de Valadares. 2020. Disponível em: <  
<https://g1.globo.com/mg/vales-mg/noticia/2020/02/04/poeira-da-lama-possivelmente-formada-por-rejeitos-da-samarco-preocupa-populacao-de-valadares.ghtml>>. Acesso em: 25 out 2020.
- GOYER, R. A.; CLARKSON, T. W. Toxic effects of metals. In: (Ed.). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 5ed.: McGraw-Hill Health Professions Division, 1996. p.811-867.
- GRISOLIA, C. K.; STARLING, F. L. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 491, n. 1-2, p. 39-44, 2001.
- GROTTO, D. et al. Evaluation by ICP-MS of essential, nonessential and toxic elements in Brazilian fish and seafood samples. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, n. 9, p. 1252-1260, 2012.
- GUÉRIN, T. et al. Determination of 20 trace elements in fish and other seafood from the French market. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 934-942, 2011.

GUSTAVINO, B. et al. Micronuclei induced in erythrocytes of *Cyprinus carpio* (teleostei, pisces) by X-rays and colchicine. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 494, n. 1-2, p. 151-159, 2001.

GUYTON, A.; HALL, J. **Textbook of Medical Physiology**. 13ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2015. 1168p.

HAN, B.-C. et al. Estimation of target hazard quotients and potential health risks for metals by consumption of seafood in Taiwan. **Archives Of environmental contamination and toxicology**, v. 35, n. 4, p. 711-720, 1998.

HAQUE, R. et al. Arsenic in drinking water and skin lesions: dose-response data from West Bengal, India. **Epidemiology**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.

HAYASHI, M. et al. Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 399, n. 2, p. 125-133, 1998.

HEDDLE, J. A. A rapid in vivo test for chromosomal damage. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 18, n. 2, p. 187-190, 1973.

HERNÁNDEZ-MENDOZA, H.; RIOS-LUGO, M. J. Rol biológico del selenio en el humano. **Química Viva**, v. 8, n. 2, p. 64-79, 2009.

HEWITT, C. D.; SAVORY, J.; WILLS, M. R. Aspects of aluminum toxicity. **Clinics in laboratory medicine**, v. 10, n. 2, p. 403-422, 1990.

HOLT, P. R. Intestinal malabsorption in the elderly. **Digestive Diseases**, v. 25, n. 2, p. 144-150, 2007.

HOOFTMAN, R. N.; DE RAAT, W. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate. **Mutation Research Letters**, v. 104, n. 1-3, p. 147-152, 1982.

IBAMA. Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais. 2015.

Disponível em: <

[https://www.ibama.gov.br/phocadownload/barragemdefundao/laudos/laudo\\_tecnico\\_preliminar\\_ibama.pdf](https://www.ibama.gov.br/phocadownload/barragemdefundao/laudos/laudo_tecnico_preliminar_ibama.pdf)>. Acesso em: 2 set 2019.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2017-2018, Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. Rio de Janeiro-RJ, 2020. Disponível em: <

<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>>. Acesso em: 22 dez 2020.

IBGE. Missão yanomami compreendendo culturas, aperfeiçoando pesquisas. **Revista Retratos**, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <

[https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com\\_mediaibge/arquivos/a7e3bbd98095fd11d780245e9a7de0db.pdf](https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/a7e3bbd98095fd11d780245e9a7de0db.pdf)>. Acesso em: 14 jun 2020.

IEF. **Portaria nº40 de 11 de maio de 2017**. Belo Horizonte, MG. 2017.

IGAM. Acompanhamento da qualidade das águas do Rio Doce após o rompimento da barragem da Samarco no distrito de Bento Rodrigues - Mariana/MG. . 2015. Disponível em: <  
[http://www.repositorioigam.meioambiente.mg.gov.br/bitstream/123456789/8/1/Relatorio%20de%20Monitoramento%20Emergencial%20do%20Rio%20Doce\\_30\\_11\\_2015.pdf](http://www.repositorioigam.meioambiente.mg.gov.br/bitstream/123456789/8/1/Relatorio%20de%20Monitoramento%20Emergencial%20do%20Rio%20Doce_30_11_2015.pdf)>.  
Acesso em: 11 abril 2020.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. 2016. Disponível em: <  
[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf)>.  
Acesso em: 3 nov 2020.

ISHIKAWA, M. et al. Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes. **Embrapa Agropecuária Oeste-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2010.

JABEEN, G.; JAVED, M.; AZMAT, H. Assessment of heavy metals in the fish collected from the river Ravi, Pakistan. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 1, p. 107-111, 2012.

JEFFERSON, J. A. et al. Excessive erythrocytosis, chronic mountain sickness, and serum cobalt levels. **The Lancet**, v. 359, n. 9304, p. 407-408, 2002.

JERONYMO, S.; BARROS, S. B. D. M.; SESSO, R. Aplicação da técnica de ICP/MS na determinação de elementos-traço em água, em líquido de diálise e em soro de pacientes renais crônicos submetidos a tratamento de hemodiálise. **J. bras. nefrol**, v. 27, n. 3, p. 138-145, 2005.

JIRAUNGKOORSKUL, W. et al. The protective influence of ascorbic acid against the genotoxicity of waterborne lead exposure in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Journal of Fish Biology**, v. 73, n. 2, p. 355-366, 2008.

JONES, G. B.; MERCURIO, P.; OLIVIER, F. Zinc in fish, crabs, oysters, and mangrove flora and fauna from Cleveland Bay. **Marine Pollution Bulletin**, v. 41, n. 7-12, p. 345-352, 2000.

KARUPPASAMY, R. Evaluation of Hg concentration in the tissue of fish *Channa punctatus* (Bloch.) in relation to short and long-term exposure to phenyl mercuric acetate. **J Plat Jubilee AU**, v. 40, n. 1, p. 197-204, 2004.

KILINC, M. et al. Serum reference levels of selenium, zinc and copper in healthy pregnant women at a prenatal screening program in southeastern Mediterranean region of Turkey. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 24, n. 3, p. 152-156, 2010.

KIM, Y.-J.; KIM, Y.-K.; KHO, H.-S. Effects of smoking on trace metal levels in saliva. **Oral Dis**, v. 16, n. 8, p. 823-830, 2010.

KIRA, C. S. **Determinação de valores de referência para chumbo, cádmio, mercúrio e níquel em sangue de crianças e adultos da cidade de São Paulo**. 2014. 223 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.

KIRA, C. S. et al. Associated factors for higher lead and cadmium blood levels, and reference values derived from general population of São Paulo, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 543, n. 1, p. 628-635, 2016.

KLAASSEN, C. D.; AMDUR, M. O. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. McGraw-Hill New York, 2013.

KOSSOFF, D. et al. Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. **Applied geochemistry**, v. 51, n. 1, p. 229-245, 2014.

KUMAR, S.; TRIVEDI, A. A review on role of nickel in the biological system. **Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci**, v. 5, n. 3, p. 719-727, 2016.

KUMMROW, F. et al. Biomonitoring method for the simultaneous determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry for assessment of environmental exposure. **Talanta**, v. 75, n. 1, p. 246-252, 2008.

KUNO, R. et al. 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**, v. 216, n. 3, p. 243-249, 2013.

LANGRIRD, S. One hundred years of chromium and cancer: a review of epidemiological evidence and selected case reports. **American journal of industrial medicine**, v. 17, n. 2, p. 189-214, 1990.

LAWRENCE, M. G. et al. Direct quantification of rare earth element concentrations in natural waters by ICP-MS. **Applied geochemistry**, v. 21, n. 5, p. 839-848, 2006.

LEMOS, C. T. et al. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. **Science of the Total Environment**, v. 406, n. 1-2, p. 337-343, 2008.

LEWEN, N. et al. A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 35, n. 4, p. 739-752, 2004.

LIAO, C. M. et al. Acute toxicity and bioaccumulation of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from a blackfoot disease area in Taiwan. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 18, n. 4, p. 252-259, 2003.

LIMA, D. P. et al. Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 4, p. 405-414, 2015.

LINS, J. A. P. N. et al. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.



LIU, P. et al. Dietary intake of lead and cadmium by children and adults—result calculated from dietary recall and available lead/cadmium level in food in comparison to result from food duplicate diet method. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 213, n. 6, p. 450-457, 2010.

LOPES, L. M. N. O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. **Sinapse Múltipla**, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2016.

MASON, L. H.; HARP, J. P.; HAN, D. Y. Pb neurotoxicity: neuropsychological effects of lead toxicity. **BioMed research international**, v. 2014, n. 1, p. 1-9, 2014.

MASSADEH, A. et al. Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Zn, and Se in human blood of Jordanian smokers by ICP-OES. **Biological trace element research**, v. 133, n. 1, p. 1-11, 2010.

MATSUMOTO, S. T. et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.

MCKELVEY, W. et al. A biomonitoring study of lead, cadmium, and mercury in the blood of New York city adults. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 10, p. 1435-1441, 2007.

MEDEIROS, R. J. et al. Determination of inorganic trace elements in edible marine fish from Rio de Janeiro State, Brazil. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 535-541, 2012.

MILANEZ, B.; LOSEKANN, C. **Desastre no Vale do Rio Doce: antecedentes, impactos e ações sobre a destruição**. Rio de Janeiro, RJ.: Letra e Imagem Editora e Produções LTDA, 2016. 465p.

MINASGERAIS. **Relatório: Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana-MG**. Responsável: Grupo da Força-Tarefa, Decreto nº 46.892/2015. Belo Horizonte: 287 p. 2016.

MINISSI, S.; CICCOTTI, E.; RIZZONI, M. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus plebejus* (Teleostei, Pisces) from two natural environments: a bioassay for the in situ detection of mutagens in freshwater. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 367, n. 4, p. 245-251, 1996.

MONTENEGRO, M. F. et al. A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene modifies plasma/whole blood lead ratio. **Archives of toxicology**, v. 80, n. 7, p. 394-398, 2006.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 251-260, 2004.

MORETTI, D. et al. Oral iron supplements increase hepcidin and decrease iron absorption from daily or twice-daily doses in iron-depleted young women. **Blood**, v. 126, n. 17, p. 1981-1989, 2015.

MORTON, J. et al. Determination of 61 elements in urine samples collected from a non-occupationally exposed UK adult population. **Toxicology letters**, v. 231, n. 2, p. 179-193, 2014.

MUNIZ, D. H. D. F.; FILHO, E. C. O. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. **Universitas: Ciências da saúde**, v. 4, n. 1, p. 83-100, 2006.

MURUGAN, S. S. et al. Bioaccumulation pattern of zinc in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch.) after chronic exposure. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 8, n. 1, p. 55-59, 2008.

NORDBERG, G. F. et al. Handbook on the toxicology of metals In: KLEIN, C. e COSTA, M. (Ed.). **CHAPTER 35 - Nickel**: Elsevier, Amsterdam, v.3, 2007. p.743-758.

NUNES, J. A. et al. 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**, v. 73, n. 13-14, p. 878-887, 2010.

OBIAKOR, M. et al. Eco-genotoxicology: micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ aquatic pollution biomarker: a review. **Journal of animal science advances**, v. 2, n. 1, p. 123-133, 2012.

OGA, S.; CARVALHO, M. M. D. A.; BATISTUZZO, J. A. D. O. **Fundamentos da toxicologia**. 4ed. São Paulo: Atheneu, 2014. 704p.

OMS. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. 1ed. São Paulo: Editora Roca, 1998. 318 p.

OSMAN, A. et al. Genotoxicity of two pathogenic strains of zoosporic fungi (*Achlya klebsiana* and *Aphanomyces laevis*) on erythrocytes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 73, n. 1, p. 24-31, 2010.

PAOLIELLO, M. et al. Valores de referência para plumbemia em uma população urbana do Sul do Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 9, n. 1, p. 315-319, 2001.

PARSONS, P. J.; BARBOSA JR, F. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 992-1003, 2007.

PAULELLI, A. C. C. **Avaliação da exposição a elementos químicos em moradores residentes em áreas atingidas pelo rompimento da barragem de rejeitos de minério de ferro em Mariana (MG)**. 2019. 151 f. Tese (Doutorado em Toxicologia) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

- PENSADOR, G.; CRUZ, R. Cacimba de Mágoa Intérpretes: Gabriel O Pensador e Falamansa. . 2016. Disponível em: < <https://www.letras.mus.br/gabriel-pensador/cacimba-de-magoa/> >. Acesso em: 16 jun 2020.
- PERAZA, M. A. et al. Effects of micronutrients on metal toxicity. **Environmental health perspectives**, v. 106, n. 1, p. 203-216, 1998.
- PEREIRA, P. et al. The relevance of temporal and organ specific factors on metals accumulation and biochemical effects in feral fish (*Liza aurata*) under a moderate contamination scenario. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 73, n. 5, p. 805-816, 2010.
- PFEIFFER, W. et al. Metais pesados no pescado da Baía de Sepetiba, Estado do Rio de Janeiro. **Ciência e Cultura**, v. 37, n. 2, p. 297-302, 1985.
- PIVETTA, F. et al. Monitoramento biológico: conceitos e aplicações em saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 545-554, 2001.
- PORTO, J. I.; ARAUJO, C. S.; FELDBERG, E. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. **Environmental research**, v. 97, n. 3, p. 287-292, 2005.
- QUEIROZ, H. M. et al. The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of the Total Environment**, v. 637, n. 1, p. 498-506, 2018.
- RAFIEE, A. et al. Environmental chronic exposure to metals and effects on attention and executive function in the general population. **Science of the Total Environment**, v. 705, n. 1, p. 1-13, 2020.
- RAMSDORF, W. A. et al. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 10, p. 5841-5849, 2012.
- RAO, R. N.; TALLURI, M. K. An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 43, n. 1, p. 1-13, 2007.
- RATNAIKE, R. N. Acute and chronic arsenic toxicity. **Postgraduate medical journal**, v. 79, n. 933, p. 391-396, 2003.
- RENOVA, F. Arquivos e relatórios. 2020. Disponível em: < <https://www.fundacaorenova.org/arquivos-e-relatorios/> >. Acesso em: 19 abril 2020.
- ROCHA, A. F. **Cádmio, Chumbo, Mercúrio—A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?** 2009. 63 f. Monografia (Graduação em Ciências da Nutrição), Universidade do Porto, Porto.

- ROCHA, E. M. et al. Impacto do rompimento da barragem em Mariana–MG na saúde da população ribeirinha da cidade de Colatina–ES. **Tempus Actas de Saúde Coletiva**, v. 10, n. 3, p. 31-49, 2016a.
- ROCHA, G. et al. Trace metal levels in serum and urine of a population in southern Brazil. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 35, n. 1, p. 61-65, 2016b.
- ROCHE, C.; THYGESEN, K.; BAKER, E. **A rapid response assessment mine tailings storage: safety is no accident**. Nairobi, Kenya: UN Environment, GRID-Arendal, 2017. 70p.
- RODRIGUES, J. L. et al. Trace element levels in whole blood of riparian villagers of the Brazilian Amazon. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 13, p. 4168-4173, 2009.
- ROSE, M. et al. Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 10, p. 1380-1404, 2010.
- SAMARCO. Aproveitamento de rejeitos. 2019. Disponível em: <<https://www.samarco.com/aproveitamento-de-rejeitos/>>. Acesso em: 26 out 2020.
- SANTOS, A. P. R. **Biomonitoramento e efeitos genotóxicos da exposição ocupacional a metais em mineradores de gema do Vale do Jequitinhonha** 2018. 62 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia, Ambiente e Sociedade ) Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni.
- SANTOS, L. M. F. D. **Atividade de etoxiresorufina-O-desetilase, frequência de micronúcleos, níveis de metais, índice hepático e fator de condição em peixes provenientes da bacia do rio Paraíba do Sul**. 2004. 190 f. Dissertação (Mestre em Saúde Pública), Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública., Rio de Janeiro.
- SARTOROS, C.; SALIN, E. D. Automatic selection of internal standards in inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, n. 11, p. 1557-1571, 1999.
- SCHAEFER, C. et al. Paisagens de lama: Os tecnossolos para recuperação ambiental de áreas afetadas pelo desastre da Barragem de Fundão, em Mariana. **Boletim informativo da SBCS**, v. 42, n. 1, p. 18-23, 2016.
- SCHERZ, H.; KIRCHHOFF, E. Trace elements in foods: zinc contents of raw foods—a comparison of data originating from different geographical regions of the world. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 5, p. 420-433, 2006.
- SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v. 31, n. 1, p. 9-15, 1975.
- SCHÜMANN, K. et al. On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revisited. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 21, n. 3, p. 147-168, 2007.

SEGURA, F. R. et al. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, v. 218, n. 1, p. 813-825, 2016.

SEMAD-IGAM. Encarte especial sobre a qualidade das águas do rio Doce após 1 ano do rompimento da Barragem de Fundão - 2015/2016. 2016. Disponível em: < [http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2016/QUALIDADE/ENCARTE\\_ESPECIAL\\_SOBRE\\_A\\_QUALIDADE\\_DA\\_%C3%81GUA\\_DO\\_RIO\\_DOCE\\_AP%C3%93S\\_O\\_ROMPIMENTO\\_DE\\_BARRAGEM\\_DA\\_SAMARCO\\_NO\\_DISTRITO\\_DE\\_BENTO\\_RODRIGUES.pdf](http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2016/QUALIDADE/ENCARTE_ESPECIAL_SOBRE_A_QUALIDADE_DA_%C3%81GUA_DO_RIO_DOCE_AP%C3%93S_O_ROMPIMENTO_DE_BARRAGEM_DA_SAMARCO_NO_DISTRITO_DE_BENTO_RODRIGUES.pdf) >. Acesso em: 07 set 2019.

SEMAD-IGAM. Encarte especial sobre a qualidade das águas do rio Doce após 3 anos do rompimento da Barragem de Fundão 2015-2018. 2018. Disponível em: < [http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2018/QUALIDADE\\_DA\\_AGUA/ENCARTE\\_Tres\\_ANOS.pdf](http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2018/QUALIDADE_DA_AGUA/ENCARTE_Tres_ANOS.pdf) >. Acesso em: 7 março 2019.

SEMAD-IGAM. Encarte Especial: qualidade das águas do Rio Doce após 4 anos do rompimento da Barragem de Fundão 2015/2019. 2019. Disponível em: < [http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2020/QUALIDADE\\_AGUAS/Encarte\\_4\\_anos\\_-\\_Desastre\\_Doce\\_-\\_Final.pdf](http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2020/QUALIDADE_AGUAS/Encarte_4_anos_-_Desastre_Doce_-_Final.pdf) >. Acesso em: 12 abril 2020.

SEMAD-IGAM. Encarte Especial: Qualidade das águas do Rio Doce após 5 anos do rompimento da Barragem de Fundão 2015/2020. Belo Horizonte, p. 74 p., 2020. Disponível em: < [http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2020/QUALIDADE\\_AGUAS/Encarte\\_5\\_anos\\_bacia\\_do\\_rio\\_Doce.pdf](http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2020/QUALIDADE_AGUAS/Encarte_5_anos_bacia_do_rio_Doce.pdf) >. Acesso em: 15 jan 2021.

SHANNON, R.; STRAYER, D. Arsenic-induced skin toxicity. **Human toxicology**, v. 8, n. 2, p. 99-104, 1989.

SHARMA, A. D. Low nickel diet in dermatology. **Indian Journal of Dermatology**, v. 58, n. 3, 2013.

SHAW, B. J. et al. Applicability of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) as a screening platform for pharmaceutical inorganic impurity analysis. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 63, n. 1, p. 151-159, 2012.

SILVA, A. et al. Chemical, mineralogical and physical characteristics of a material accumulated on the river margin from mud flowing from the collapse of the iron ore tailings dam in Bento Rodrigues, Minas Gerais, Brazil. **Revista Espinhaço**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2017.

SILVA, D. D. C. et al. Trace elements in river waters and sediments before and after a mining dam breach (Bento Rodrigues, Brazil). **Química Nova**, v. 41, n. 8, p. 857-866, 2018.

SILVA, E. et al. Assessment of trace elements in tissues of fish species: multivariate study and safety evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 12, p. 2234-2245, 2016.

SILVA, I. C. C.; ALMEIDA, L. M.; MERLINI, L. S. Análise da qualidade da água e dos peixes do lago Aratimbó, Umuarama Pr-Brasil. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 149-157, 2011.

SNEDDON, J. et al. Determination of metals in seafood and fish in Southwest Louisiana. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 42, n. 1, p. 23-42, 2007.

SOUZA, J. et al. Arsênio e arroz: toxicidade, metabolismo e segurança alimentar. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 118-127, 2015a.

SOUZA, J. J. L. L. et al. Geochemistry and spatial variability of metal (loid) concentrations in soils of the state of Minas Gerais, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 505, n. 1, p. 338-349, 2015b.

STECKLING, N. et al. 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**, v. 409, n. 5, p. 994-1000, 2011.

STOVING, C. et al. Development and validation of an ICP-OES method for quantitation of elemental impurities in tablets according to coming US pharmacopeia chapters. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 84, n. 1, p. 209-214, 2013.

SUTTON, K.; SUTTON, R. M.; CARUSO, J. A. Inductively coupled plasma mass spectrometric detection for chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 789, n. 1-2, p. 85-126, 1997.

TAKEDA, S. H. K. et al. Trace element levels in blood and associated factors in adults living in the metropolitan area of São Paulo, Brazil. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 44, n. 1, p. 307-314, 2017.

THOMAS, R. Choosing the right trace element technique. **Today's Chemist At work**, v. 8, n. 1, p. 42-49, 1999.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Method 3051a. 2007. Disponível em: < <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf> >. Acesso em: 15 fev 2020.

VALE. Mineiraç o, nosso principal neg cio. 2020. Disponível em: < <http://www.vale.com/brasil/pt/business/mining/paginas/default.aspx> >. Acesso em: 08 abril 2020.

VALENTINI, J. et al. Blood antioxidant nutrients in riparian villagers of the Brazilian Amazon: its associations with wet/dry seasons and modulation by sociodemographic determinants. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 1, p. 21-31, 2016.

VAREJ O, E. V. et al. Arsenic and trace metals in river water and sediments from the southeast portion of the Iron Quadrangle, Brazil. **Environmental monitoring and assessment**, v. 172, n. 1-4, p. 631-642, 2011.

VARGAS, I. B. et al. Potencial mutagênico e genotóxico de peixes expostos ao sedimento do Rio Doce após o rompimento da barragem. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 595, 2017.

VERSTRAETEN, S. V.; AIMO, L.; OTEIZA, P. I. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. **Archives of toxicology**, v. 82, n. 11, p. 789-802, 2008.

VORMITTAG, E. D. M. P. A. A.; OLIVEIRA, M. A. D.; GLERIANO, J. S. Health evaluation of the barra longa population affected by the disaster in Mariana county. **Ambiente & Sociedade**, v. 21, n. 1, p. 1-22, 2018.

WANG, X. et al. Metal biomonitoring and comparative assessment in urine of workers in lead-zinc and steel-iron mining and smelting. **Biological trace element research**, v. 189, n. 1, p. 1-9, 2018.

WEGNER, R. et al. Lung function, biological monitoring, and biological effect monitoring of gemstone cutters exposed to beryls. **Occupational and environmental medicine**, v. 57, n. 2, p. 133-139, 2000.

WHO. Environmental Health Criteria 224. **World Health Organisation**, Geneva, 2001. Disponível em: < <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm> >. Acesso em: 30 abril 2019.

WU, C.-C.; LIU, H.-M. Determinants of metals exposure to metalworking fluid among metalworkers in Taiwan. **Archives of environmental & occupational health**, v. 69, n. 3, p. 131-138, 2014.

YI, Y.-J.; ZHANG, S.-H. Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze River. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 9, p. 3989-3996, 2012.

ZENKNER, F. F. et al. Avaliação genotoxicológica em peixes nativos do Rio Pardo, RS, Brasil. **Caderno de Pesquisa**, v. 23, n. 1, p. 5-16, 2011.

ZUBCOV, E. et al. Assessment of copper and zinc levels in fish from freshwater ecosystems of Moldova. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 6, p. 2238-2247, 2012.





## **APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Você está sendo convidado a participar do “Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão” por ser morador das comunidades de Ilha das Pimentas em Governador Valadares-MG ou Santo Antônio do RioDoce em Aimorés-MG que foram atingidos pelo rompimento da barragem de Fundão em novembro de 2015, o que pode estar associada à elevada concentração de metais tóxicos. Este projeto é coordenado pelo Professor Dr. Jairo Lisboa Rodrigues e contará com a aluna Alice Rodrigues de Matos.

A sua participação não é obrigatória sendo que, a qualquer momento da pesquisa, você poderá desistir e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo para sua relação com o pesquisador ou com a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

O objetivo deste estudo é verificar se as populações das comunidades citadas acima estão contaminadas, ou se tem risco de contaminação por algum metal tóxico através do consumo de peixes. Para isso, analisaremos amostras de urina e de sangue.

Caso você decida aceitar o convite, será submetido (a) ao (s) seguinte (s) procedimentos: responder um questionário, realizar coleta de sangue e urina. O tempo previsto para a sua participação é de aproximadamente 40 minutos.

Será fornecido a você gratuitamente um frasco específico para que você realize a coleta de urina num volume aproximado entre 20 a 30 mL em sua casa. Você será devidamente orientado de que forma deverá ser coletada a urina.

A coleta de sangue será realizada no ESF da sua comunidade pela aluna pesquisadora ou pelos técnicos habilitados do município, onde coletarão 7 mL de sangue para cada frasco utilizado (com EDTA e outro sem EDTA). Para isso, a coleta será realizada em uma data agendada pela manhã e você deverá ter ficado 8h em jejum. Após a coleta será servido um pequeno lanche como forma de minimizar o risco de fraqueza.

Os riscos relacionados da coleta de sangue poderão ser ligeiro mal estar, sudorese (aumento na produção de suor), tontura, queda da pressão, hematoma (vermelhidão), dor, infecção, e possibilidade de desconforto durante a coleta do sangue, e serão minimizados pelos seguintes procedimentos: assepsia antes da coleta; colocação de compressa de gelo; utilização de materiais descartáveis; coleta em local reservado; o técnico de coleta para o sangue será treinado.

Você deverá também responder a um questionário, que contém algumas perguntas sobre: idade, sexo, escolaridade, tempo de residência no local, se bebe, se fuma, fonte de consumo de água, frequência de consumo de peixe, tipo do peixe, sinais e sintomas pós-desastre. Caso você se sinta constrangido com alguma pergunta, você terá liberdade de não responder a qualquer uma das questões. Com isto, encerra-se sua participação nesse estudo.

Os riscos relacionados poderão ser constrangimento ao responder o questionário e identificação. Serão minimizados através de aplicação do questionário em locais reservados, os participantes serão identificados por códigos e terão a liberdade de não responder a qualquer uma das questões.

Os benefícios aos voluntários participantes do grupo 1 (Ilha das Pimentas) e grupo 2 (Santo Antônio do RioDoce) serão diretos, com o livre acesso aos próprios resultados dos exames de sangue e urina, bem como ao resultado sobre o consumo de peixe contaminado na sua região. Será esclarecida qualquer dúvida relacionada aos procedimentos, riscos, benefícios e quaisquer outras dúvidas que venham a aparecer relacionadas à pesquisa a qualquer tempo pelos pesquisadores do estudo listado no início deste termo.

Suas amostras de urina e sangue serão coletadas, congeladas e levadas para a UFVJM local em que serão feitas as análises. Será feita a determinação da concentração de metais nas amostras de urina e sangue. Suas amostras serão utilizadas unicamente para a realização destas análises, por um período médio de 12 meses, e se após as análises propostas sobrar alguma quantidade de sua amostra, esta será embalada em saco plástico apropriado para descarte de materiais biológicos, será lacrado e entregue para o Sistema de Coletas da Prefeitura da Cidade de Teófilo Otoni para incineração.

Os resultados ficarão à sua disposição e manteremos o seu nome em segredo com padrões profissionais de sigilo. Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados/informações pessoais obtidos por meio da sua participação serão confidenciais e sigilosos, não possibilitando sua identificação.

Em caso de contaminação por elemento químico, será realizado um plano de comunicação sobre os riscos de exposição, em parceria com órgãos de saúde local para tomar a devida providência para minimizar os impactos decorrentes desta contaminação. E caso necessário, o participante da pesquisa será orientado e encaminhado ao atendimento médico mais próximo.

Você receberá os resultados das análises realizadas gratuitamente. A sua participação na pesquisa não implicará em qualquer tipo de despesa para você e não será fornecida nenhuma compensação financeira adicional.

Você receberá uma via deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação agora ou em qualquer momento.

**Coordenador do Projeto:** Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

**Endereço:** Campus do Mucuri - Teófilo Otoni/MG Rua do Cruzeiro, nº 01 - Jardim São Paulo - CEP 39803-371

**Telefone:** (33) 3529-2700

Declaro que entendi os objetivos, a forma de minha participação, riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa, a qual garante o anonimato e o sigilo referente à minha participação.

Nome do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

---

Informações – Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM  
Rodovia MGT 367 - Km 583 - nº 5000 - Alto da Jacuba  
Diamantina/MG CEP39100-000  
Tel.: (38)3532-1240  
Coordenadora: Prof.<sup>a</sup> Simone Gomes Dias de Oliveira  
Secretária: Leila Adriana Gaudencio Sousa  
Email: [cep.secretaria@ufvjm.edu.br](mailto:cep.secretaria@ufvjm.edu.br)



**APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Você está sendo convidado a participar do “Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão” por ser morador de municípios da bacia do rio Mucuri que não foram atingidos pelo rompimento da barragem de Fundão em novembro de 2015. Este projeto é coordenado pelo Professor Dr. Jairo Lisboa Rodrigues e contará com a aluna Alice Rodrigues de Matos.

A sua participação não é obrigatória sendo que, a qualquer momento da pesquisa, você poderá desistir e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo para sua relação com o pesquisador ou com a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

O objetivo deste estudo é utilizar os resultados das análises de moradores de uma área não atingida, que servirão de parâmetros para comparação com a de moradores atingidos pelo rompimento da barragem de Fundão. Para isso, analisaremos amostras de urina e de sangue.

Caso você decida aceitar o convite, será submetido (a) ao (s) seguinte (s) procedimentos: responder um questionário, realizar coleta de sangue e urina. O tempo previsto para a sua participação é de aproximadamente 40 minutos.

Será fornecido a você gratuitamente um frasco específico para que você realize a coleta de urina num volume aproximado entre 20 a 30 mL em sua casa. Você será devidamente orientado de que forma deverá ser coletada a urina.

A coleta de sangue será realizada no ESF da sua comunidade pela aluna pesquisadora ou pelos técnicos habilitados do município, onde coletarão 7 mL de sangue para cada frasco utilizado (com EDTA e outro sem EDTA). Para isso, a coleta será realizada em uma data agendada pela manhã e você deverá ter ficado 8h em jejum. Após a coleta será servido um pequeno lanche como forma de minimizar o risco de fraqueza.

Os riscos relacionados da coleta de sangue poderão ser ligeiro mal estar, sudorese (aumento na produção de suor), tontura, queda da pressão, hematoma (vermelhidão), dor, infecção, e possibilidade de desconforto durante a coleta do sangue, e serão minimizados pelos seguintes procedimentos: assepsia antes da coleta; colocação de compressa de gelo; utilização de materiais descartáveis; coleta em local reservado; o técnico de coleta para o sangue será treinado.

Você deverá também responder a um questionário, que contém algumas perguntas sobre: idade, sexo, escolaridade, tempo de residência no local, se bebe, se fuma, fonte de consumo de água, frequência de consumo de peixe, tipo do peixe, sinais e sintomas pós-

desastre. Caso você se sinta constrangido com alguma pergunta, você terá liberdade de não responder a qualquer uma das questões. Com isto, encerra-se sua participação nesse estudo.

Os riscos relacionados poderão ser constrangimento ao responder o questionário e identificação. Serão minimizados através de aplicação do questionário em locais reservados, os participantes serão identificados por códigos e terão a liberdade de não responder a qualquer uma das questões. Você não terá nenhum tipo de benefício relacionado à participação desta pesquisa. Será esclarecida qualquer dúvida relacionada aos procedimentos, riscos, benefícios e quaisquer outras dúvidas que venham a aparecer relacionadas à pesquisa a qualquer tempo pelos pesquisadores do estudo listado no início deste termo.

Os resultados ficarão à sua disposição e manteremos o seu nome em segredo com padrões profissionais de sigilo. Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados/informações pessoais obtidos por meio da sua participação serão confidenciais e sigilosos, não possibilitando sua identificação. Você receberá os resultados das análises realizadas gratuitamente. A sua participação na pesquisa não implicará em qualquer tipo de despesa para você e não será fornecida nenhuma compensação financeira adicional.

Você receberá uma via deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação agora ou em qualquer momento.

**Coordenador do Projeto:** Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

**Endereço:** Campus do Mucuri - Teófilo Otoni/MG Rua do Cruzeiro, nº 01 - Jardim São Paulo - CEP 39803-371

**Telefone:** (33) 3529-2700

Declaro que entendi os objetivos, a forma de minha participação, riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa, a qual garante o anonimato e o sigilo referente à minha participação.

Nome do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_




---

Informações – Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM  
Rodovia MGT 367 - Km 583 - nº 5000 - Alto da Jacuba  
Diamantina/MG CEP39100-000

Tel.: (38)3532-1240

Coordenadora: Prof.<sup>a</sup> Simone Gomes Dias de Oliveira  
Secretária: Leila Adriana Gaudencio Sousa

## **APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Você está sendo convidado a participar do “Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão” por ser morador de municípios da bacia do rio Mucuri que não foram atingidos pelo rompimento da barragem de Fundão em novembro de 2015. Este projeto é coordenado pelo Professor Dr. Jairo Lisboa Rodrigues e contará com a aluna Alice Rodrigues de Matos.

A sua participação não é obrigatória sendo que, a qualquer momento da pesquisa, você poderá desistir e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo para sua relação com o pesquisador ou com a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

O objetivo deste estudo é utilizar os resultados das análises de moradores de uma área não atingida, que servirão de parâmetros para comparação com a de moradores atingidos pelo rompimento da barragem de Fundão. Para isso, analisaremos amostras de urina e de sangue.

Caso você decida aceitar o convite, os resultados das amostras de urina e sangue coletados através do trabalho de Santos (2018) serão utilizados na presente pesquisa.

Você também deverá responder a um questionário, que contém algumas perguntas sobre: idade, sexo, escolaridade, tempo de residência no local, se bebe, se fuma, fonte de consumo de água, frequência de consumo de peixe, tipo do peixe, sinais e sintomas pós-desastre. Caso você se sinta constrangido com alguma pergunta, você terá liberdade de não responder a qualquer uma das questões. Com isto, encerra-se sua participação nesse estudo.

Os riscos relacionados poderão ser constrangimento ao responder o questionário e identificação. Serão minimizados através de aplicação do questionário em locais reservados, os participantes serão identificados por códigos e terão a liberdade de não responder a qualquer uma das questões.

Você não terá nenhum tipo de benefício relacionado à participação desta pesquisa.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados/informações pessoais obtidos por meio da sua participação serão confidenciais e sigilosos, não possibilitando sua identificação.

Você receberá uma via deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação agora ou em qualquer momento.

**Coordenador do Projeto:** Prof. Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

**Endereço:** Campus do Mucuri - Teófilo Otoni/MG Rua do Cruzeiro, nº 01 - Jardim São Paulo - CEP 39803-371

**Telefone:** (33) 3529-2700

Declaro que entendi os objetivos, a forma de minha participação, riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa, a qual garante o anonimato e o sigilo referente à minha participação.

Nome do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

---

Informações – Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM  
Rodovia MGT 367 - Km 583 - nº 5000 - Alto da Jacuba  
Diamantina/MG CEP39100-000  
Tel.: (38)3532-1240  
Coordenadora: Prof.<sup>a</sup> Simone Gomes Dias de Oliveira  
Secretária: Leila Adriana Gaudencio Sousa  
Email: [cep.secretaria@ufvjm.edu.br](mailto:cep.secretaria@ufvjm.edu.br)

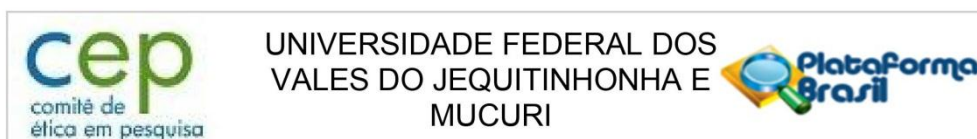


**APÊNDICE D - QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO PRELIMINAR DA  
POPULAÇÃO EXPOSTA E NÃO EXPOSTA AO ROMPIMENTO DA BARRAGEM  
DE FUNDÃO**

Nome:	Sexo: ( 1 ) M ( 2 ) F
Data de Nascimento: ___/___/___ Data da coleta ___/___/___	Idade (Anos) _____
Endereço:	Telefone:
Estado Civil: ( 1 ) Solteiro (a) ( 2 ) Casado(a) ( 3 ) Viúvo (a) ( 4 ) Outro	
Escolaridade: ( 1 ) Da 1ª à 4ª série do Ensino Fundamental (antigo primário) ( 2 ) Da 5ª à 8ª série do Ensino Fundamental (antigo ginásio) ( 3 ) Ensino Médio (antigo 2º grau) ( 4 ) Ensino Superior ( 5 ) Especialização ( 6 ) Nenhuma das anteriores	
Localidade: ( 1 ) Santo Antônio do Rio Doce - Aimorés ( 2 ) Ilha das Pimentas - Governador Valadares ( 3 ) Bacia do Rio Mucuri	
Tempo de residência no local: ( 1 ) Menos de 4 anos ( 2 ) 4 – 10 anos ( 3 ) 10 – 20 anos ( 4 ) Mais de 20 anos	
Sinais e sintomas pós desastre: ( 1 ) Dor de cabeça ( 2 ) Coceira ( 3 ) Problemas cardiorrespiratórios ( 4 ) Lesão hepática ( 5 ) Lesão renal ( 6 ) Mancha na pele ( 7 ) Câncer ( 8 ) Alzheimer ( 9 ) Outros _____	
Fonte de consumo de água: ( 1 ) Poço ( 2 ) Nascente ( 3 ) Mineral ( 4 ) Rede de distribuição pública ( 5 ) Outros _____	
Consumo de peixe: ( 1 ) Sim ( 2 ) Não	
Tipo de peixe: ( 1 ) Água doce ( 2 ) Água salgada	
Fonte do peixe: ( 1 ) Rio Doce ( 2 ) Rio Corrente ( 3 ) Rio Manhuaçu ( 4 ) Não sabe ( 5 ) Outros _____	
Frequência de consumo de peixe: ( 1 ) Sem consumo de peixe ( 2 ) Menos de duas refeições por semana ( 3 ) Duas a quatro refeições de peixe por semana ( 4 ) Mais de quatro refeições de peixe por semana ( 5 ) Consumo de peixe desconhecido	

<p>Espécie do peixe consumida antes do desastre:</p> <p>( 1 ) Bagre africano  ( 2 ) Piau  ( 3 ) Corvina  ( 4 ) Pacamã  ( 5 ) Curimba  ( 6 ) Cascudo  ( 7 ) Truvira  ( 8 ) Traíra  ( 9 ) Tilápia  (10) Dourado  (11) Mandi  (12) Lambari  (13) Outros _____</p> <p>Espécie do peixe consumida atualmente:</p> <p>( 1 ) Bagre africano  ( 2 ) Piau  ( 3 ) Corvina  ( 4 ) Pacamã  ( 5 ) Curimba  ( 6 ) Cascudo  ( 7 ) Truvira  ( 8 ) Traíra  ( 9 ) Tilápia  (10) Dourado  (11) Mandi  (12) Lambari  (13) Outros _____</p>
<p>Você fuma? ( 1 ) Sim ( 2 ) Não</p> <p>Se sim, quantos maços de cigarro por dia? _____</p> <p>Há quanto tempo fuma? _____</p>
<p>Você bebe? ( 1 ) Sim ( 2 ) Não</p> <p>Qual bebida? _____</p> <p>Quantas doses da bebida por dia? _____</p> <p>Há quanto tempo bebe? _____</p>
<p>Uso de produtos químicos? ( 1 ) Sim ( 2 ) Não</p> <p>Qual o tipo? ( 1 ) Praguicida  ( 2 ) Inseticida doméstico  ( 3 ) Outros _____</p>
<p>Outras informações relevantes:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

## ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão

**Pesquisador:** ALICE RODRIGUES DE MATOS

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 18940819.1.0000.5108

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

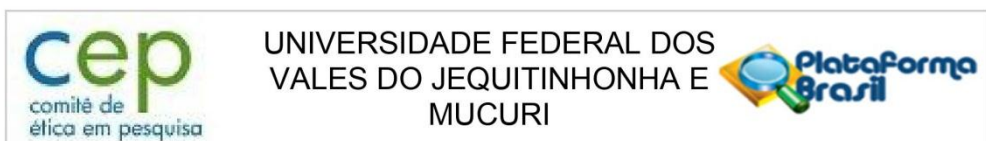
#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.571.410

#### Apresentação do Projeto:

No dia 5 de novembro de 2015, ocorreu o maior desastre ambiental no Brasil provocado pelo rompimento da barragem de Fundão, em Mariana-MG. Causou a morte de 19 pessoas, impactaram cursos d'água, terras agricultáveis, atividades econômicas, abastecimento de água potável para cidades e grande impacto na biodiversidade. As análises da qualidade da água no Rio Doce, região de Minas Gerais, ao longo de duas décadas, demonstraram que existia contaminação de alguns metais, mas que foi potencializada no período imediato após o rompimento da barragem. A exposição às substâncias químicas pode provocar tanto efeitos tóxicos quanto alterações no estado de saúde dos indivíduos que vivem ou têm contato com ambientes dessa natureza. Após o desastre, parte da população tem parado de consumir peixe advindo do Rio Doce, bem como buscado por fontes alternativas de água para consumo humano. A mudança de hábito deve-se à preocupação de que a concentração de metais tóxicos possa comprometer a saúde humana. O presente trabalho pretende avaliar o risco de exposição à saúde humana mediante a determinação das concentrações de metais em peixes no Rio Doce, e o estudo de biomonitoramento humano da população das localidades de Santo Antônio do Rio Doce (Aimorés) e Ilha das Pimentas (Governador Valadares), após o rompimento da barragem de Fundão, por meio de questionário aplicado, coleta de sangue e urina dos ribeirinhos e coleta de amostras de peixe (sazonalmente) utilizando a técnica Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS) para a quantificação dos metais.

**Endereço:** Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000  
**Bairro:** Alto da Jacuba **CEP:** 39.100-000  
**UF:** MG **Município:** DIAMANTINA  
**Telefone:** (38)3532-1240 **Fax:** (38)3532-1200 **E-mail:** cep.secretaria@ufvjm.edu.br



Continuação do Parecer: 3.571.410

Orçamento	ORCAMENTO.pdf	19:11:46	DE MATOS	Aceito
-----------	---------------	----------	----------	--------

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

DIAMANTINA, 12 de Setembro de 2019

**Assinado por:**

**Raquel Schwenck de Mello Vianna Soares  
(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000  
**Bairro:** Alto da Jacuba **CEP:** 39.100-000  
**UF:** MG **Município:** DIAMANTINA  
**Telefone:** (38)3532-1240 **Fax:** (38)3532-1200 **E-mail:** cep.secretaria@ufvjm.edu.br

## ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEUA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



### CERTIFICADO

(Animais de Vida Livre)

Diamantina, 13 de Fevereiro de 2020

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na bacia do rio Doce após o rompimento da Barragem de Fundão", registrada com o nº 054/2019 sob a responsabilidade do Prof. Jairo Lisboa Rodrigues, - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/UFVJM) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI, em reunião de 05/02/2020.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/03/2020 a 28/02/2022
Nº da Solicitação ou Autorização SISBIO	Não apresentada e recomendada
Atividade(s)	Captura Eutanásia
Espécies/Grupos Taxonômicos	Superclasse Peixes ( <i>Hoplias intermedius</i> ; <i>Oreochromis niloticus</i> ; <i>Pygocentrus nattereri</i> ; <i>Myleus sp.</i> ; <i>Serrasalmus sp</i> )
Local(is) de realização das atividades	Rio Doce, Comunidade Ilha Brava em Governador Valadares e Distrito de Santo Antonio do Rio Doce, MG

*O prazo de validade desse Certificado é equivalente a vigência do Projeto prorrogável por mais 1 ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA/UFVJM durante a vigência do projeto.*

*Com o recebimento deste parecer, o responsável compromete-se a entregar o relatório final da proposta até 60 dias após o término. Em caso de planos de aula, a cada seis meses estes deverão ser revalidados.*

*Ressaltamos que, conforme a Resolução Normativa I, de 9 de Julho de 2010, qualquer alteração no protocolo previamente aprovado, na equipe técnica, bem como acidentes envolvendo os animais, competem ao responsável a comunicação a CEUA/UFVJM.*

  
Kinulbe Honorato Sampaio

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais / UFVJM

Campus JK  
Comissão de Ética no Uso de Animais / UFVJM  
Prédio da Reitoria-PRPPG- Rodovia MGT 367 - Km 583, nº 5000nAlto da Jacuba -  
Diamantina/MG - CEP 39100-000 Telefone: +55 (38) 3532-1200

**CEUA** Comissão de Ética  
no Uso de Animais



## ANEXO C – CARTA DE AUTORIZAÇÃO DA SMS AIMORÉS



### PREFEITURA MUNICIPAL DE AIMORÉS

Avenida Raul Soares, 310 – Aimorés – Minas Gerais – CEP: 35.200-000  
CNPJ: 18.348.094/0001-50 – Fone: (33) 3267-1671 – Fax: (33) 3267-1603  
E-mail: prefeitura@aimores.mg.gov.br site: www.aimores.mg.gov.br

Aimorés, 08 de outubro de 2019.

### Autorização para uso da Instituição Coparticipante (Carta de Instituição Coparticipante)

Declaro ter lido e concordado com o parecer ético emitido pelo CEP da UFVJM número do **Parecer: 3.571.410**, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 466/12. Esta instituição está ciente de suas responsabilidades como instituição coparticipante do projeto de pesquisa “Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão” coordenado pelo pesquisador Dr. Jairo Lisboa Rodrigues e pela aluna mestranda Alice Rodrigues de Matos e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos participantes da pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia da segurança e bem-estar.

Carlos Vinícius Ernandes Patrício  
Secretário Municipal de Saúde  
SUS/Aimorés - Minas Gerais

---

Carlos Vinícius Ernandes Patrício  
Secretário Municipal de Saúde





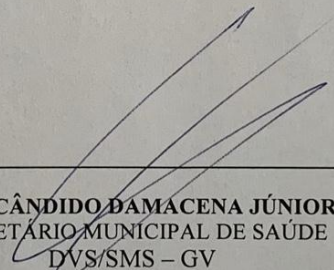
**ANEXO D – CARTA DE AUTORIZAÇÃO DA SMS GOVERNADOR VALADARES**

PREFEITURA MUNICIPAL DE GOVERNADOR VALADARES  
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE

**Autorização para uso da Instituição Coparticipante  
(Carta de Instituição Coparticipante)**

Governador Valadares, 21 de Outubro de 2019.

Declaro ter lido e concordado com o parecer ético emitido pelo CEP da UFVJM número **do Parecer:** 3.571.410, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 466/12. Esta instituição está ciente de suas responsabilidades como instituição coparticipante do projeto de pesquisa “Estudo de avaliação de risco e biomonitoramento humano na Bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de Fundão” coordenado pelo pesquisador Dr. Jairo Lisboa Rodrigues e pela aluna mestranda Alice Rodrigues de Matos e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos participantes da pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia da segurança e bem-estar.

  
\_\_\_\_\_  
**ENES CÂNDIDO DAMACENA JÚNIOR**  
SECRETÁRIO MUNICIPAL DE SAÚDE  
DVS/SMS – GV