

PEDRO DE MOURA SANJAD

AÇÃO DOS MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS
NATIVOS DO RIO PARAPEBA NA DISSOLUÇÃO
REDUTIVA DO FERRO, EM SEDIMENTOS DE FUNDO DE
TRECHOS ATINGIDOS OU NÃO PELO REJEITO DE
MINERAÇÃO DA BARRAGEM I DA MINA DE CÓRREGO
DO FEIJÃO (BRUMADINHO, MG)



**Monografia apresentada ao Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes, da
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como pré-requisito para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências
Biológicas: Microbiologia e Imunologia.**

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
JUNHO / 2021

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Geral, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da Professora Carolina Neumann Keim.

Sanjad, Pedro de Moura

Ação dos microrganismos heterotróficos nativos do rio Paraopeba na dissolução redutiva do ferro, em sedimentos de fundo de trechos atingidos ou não pelo rejeito de mineração da barragem I da mina de Córrego do Feijão (Brumadinho, MG) / Pedro de Moura Sanjad. -- Rio de Janeiro, 2021.

x; 44 f.

Orientadora: Carolina Neumann Keim .

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia, 2021.

Bibliografia: f.40-44

1. Brumadinho. 2. Rio Paraopeba. 3. Ciclo do Ferro. 4. Sedimento. 5. Rejeito de mineração . I. Keim , Carolina Neumann, orient. II. Título. III. UFRJ. Instituto de Microbiologia Paulo de Góes.

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS
DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

ALUNO: Pedro de Moura Sanjad

DRE: 117087836

BANCA EXAMINADORA: Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius (Presidente)

Prof. Zuleica Carmen Castilhos

Prof. Enrico Mendes Saggioro

Prof. Caio Távora Rachid Coelho (Suplente)

Título da Monografia: “Ação dos microrganismos heterotróficos nativos do Rio Paraopeba na dissolução reductiva de ferro em sedimentos de fundo de trechos atingidos ou não pelo rejeito de mineração da Barragem I da mina de Córrego do Feijão (Brumadinho, MG)”

Local: Sala virtual <https://meet.google.com/fcd-imagw-dio>

Data e hora de início: 09 de junho de 2021 às 15:00h

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 9,5 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelo presidente da banca examinadora, aluno, orientador (ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 09 de junho de 2021.

NOTA	Banca Examinadora:
9,5	Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius
9,5	Prof. Zuleica Carmen Castilhos
9,5	Prof. Enrico Mendes Saggioro
_____	Prof. Caio Távora Rachid Coelho

Presidente da banca _____

Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius

Aluno: _____

Pedro de Moura Sanjad

Orientador: _____

Prof.ª Carolina Neumann Keim

Coordenador _____

de TCC _____

Prof.ª Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

AGRADECIMENTOS

Agradeço, acima de tudo, a Deus, por ter sido meu melhor amigo e meu consolo em todos os momentos da minha vida até aqui. A Ele toda honra e glória para sempre.

Agradeço à minha família, especialmente as mulheres, minha mãe, minha avó e minha irmã, por sempre acreditarem nos meus sonhos e meus objetivos e nunca desistirem de mim. Além de me darem todo o suporte material e de afeto que fazer uma faculdade precisa.

Quero agradecer também ao Julio, por ter me mostrado o poder de um abraço, e que em qualquer lugar você pode ter um lar, desde que você se sinta amado.

Obrigado aos meus amigos de colégio: Anderson, Ingrid, Jullya, as duas Luíças, e mais uma lista cheia de nomes preciosos que me mostraram que família é mais do que sangue. Obrigado por compartilharem suas dores e frustrações acadêmicas, cada um em seus respectivos cursos. Mostraram-me que eu não estou sozinho.

Agradeço também à Ana Caroline, vulgo “Kaoru”, por ter me mostrado que ser antissocial não é defeito, que Otakus merecem direitos humanos, e que falar palavrão no laboratório melhora muito o rendimento acadêmico.

Um obrigado especial à professora Carolina Neumann Keim, por ter me acolhido no seu laboratório quando todo mundo tinha medo da disciplina de BEM, e ter tido paciência de me ensinar as técnicas do laboratório. Sinto muito pela falta de habilidades manuais.

Agradeço ao meu veterano, Alex Silva Santos, por ter tido calma e paciência de me ensinar o método da ferrozina quando eu sequer fazia ideia do que estava fazendo.

Agradeço à Prof^a. Mirian Crapez, da Universidade Federal Fluminense, por ter cedido seu laboratório para que pudéssemos realizar os procedimentos de quantificação das biomoléculas.

A todo o pessoal do Laboratório de Biotecnologia Ambiental e de Leveduras, por me deixarem usar o espectrofotômetro inúmeras vezes. Me desculpem se eu pinteí alguma coisa de rosa nesse processo.

Obrigado aos meus vizinhos motorizados do bairro de Vila Valqueire por me darem carona para a faculdade e para casa, além de me livrarem do BRT tornaram a viagem e o trânsito do Rio muito mais divertido e leve.

Obrigado à Luciana Gemal, minha psicóloga, por ter cuidado da minha saúde mental e do meu bem estar ao longo desses quatro anos de caminhada.

Quero agradecer aos meus professores do curso de Microbiologia e Imunologia, que me fizeram me apaixonar cada vez mais pela ciência e me acolheram como segunda casa.

E, por fim, às “tias da limpeza” do meu corredor, por tirarem o fedor do meu laboratório e sempre me darem um “bom dia” com uma disposição que às vezes eu não tinha, e também a todos os “tios da cantina” por sempre alegrarem meu café da manhã com a promoção do salgado mais um guaraná natural.

A UFRJ é mais que uma universidade, é uma família!

“¹Ainda que eu falasse a língua dos homens e dos anjos, se não houver amor, sou como o bronze que ressoa, ou o címbalo que retine.
²Mesmo que tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência; mesmo que tivesse toda a fé, a ponto de remover montanhas, sem amor, eu nada seria.”

Primeira carta de São Paulo aos Coríntios, capítulo 13.

RESUMO

PEDRO DE MOURA SANJAD

AÇÃO DOS MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS NATIVOS DO RIO PARAOPEBA NA DISSOLUÇÃO REDUTIVA DO FERRO, EM SEDIMENTOS DE FUNDO DE TRECHOS ATINGIDOS OU NÃO PELO REJEITO DE MINERAÇÃO DA BARRAGEM I DA MINA DE CÓRREGO DO FEIJÃO (BRUMADINHO, MG)

Orientador:

PROF^a. CAROLINA NEUMANN KEIM

Em janeiro de 2019, ocorreu o rompimento da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão, no município de Brumadinho, MG. A força da enxurrada causou vários danos materiais, além de provocar a morte de mais de 250 pessoas. O rejeito deslocou-se por gravidade até chegar à calha do Rio Paraopeba, onde foi carregado pela correnteza, depositando-se nos sedimentos e causando mudanças na qualidade da água. O rejeito continha cerca de 56% de ferro, principalmente em óxidos/hidróxidos de Fe(III) como hematita e goetita, minerais que funcionam como carreadores de diversos elementos-traço no ambiente. Na crosta terrestre, o ferro se alterna entre um estado mais oxidado (Fe(III) ou férrico), menos solúvel, e um mais reduzido (Fe(II) ou ferroso), mais solúvel. Em pH neutro a alcalino, o Fe(II) é rapidamente oxidado a Fe(III) na presença de oxigênio. Já a redução do Fe(III) a Fe(II) é catalisada pela ação de microrganismos heterotróficos em anaerobiose, que usam o Fe(III) disponível comoceptor final de elétrons (redução dissimilatória de ferro), ou para melhorar o balanço redox (fermentação), reduzindo-o a Fe(II). Como o Fe(II) é mais solúvel que o Fe(III), a redução do Fe(III) a Fe(II) pode levar a dissolução de minerais e a liberação de elementos-traço para a fase líquida. Neste trabalho, temos como objetivos verificar a presença e as atividades de microrganismos que realizam a dissolução redutiva de ferro nos sedimentos do Rio Paraopeba. Para isso, coletamos amostras de água e sedimentos em três pontos do rio, sendo um a montante da região atingida pelo rejeito da Barragem I (P1), e outros dois a jusante do ponto de entrada do rejeito no rio (P2 e P3). A água e os sedimentos foram utilizados para construir microcosmos anóxicos, contendo ou não microrganismos nativos e adição de substratos orgânicos. A dissolução redutiva do ferro foi avaliada por meio da análise da concentração de Fe(II) na fase líquida. Os resultados mostram que a concentração de ferro aumenta ao longo do tempo nos experimentos contendo microrganismos vivos e glicose ou extrato de leveduras, mas não nos microcosmos contendo acetato, nem naqueles sem adição de matéria orgânica, e nem nos microcosmos autoclavados. Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de Fe(II) da fase líquida entre os microcosmos representando P1, P2 e P3 até cerca de 50 dias, porém após esse período as concentrações de Fe(II) nos microcosmos representando P1 começaram a cair, enquanto nos microcosmos representando P2 e P3 as concentrações de Fe(II) continuaram aumentando, atingindo um platô que se manteve até o término do experimento em 200 dias. Concluímos que existem microrganismos capazes de realizar a dissolução redutiva de ferro nos sedimentos do Rio Paraopeba, os quais se tornam ativos na presença de substratos orgânicos fermentáveis. Como desdobramento deste trabalho, sugerimos o controle do lançamento de efluentes orgânicos e esgotos domésticos na bacia do Rio Paraopeba como forma de limitar a transferência de elementos-traço dos sedimentos para a coluna d'água.

Palavras-chave: Brumadinho; Rio Paraopeba; ciclo do ferro; sedimento; rejeito de mineração de ferro.

ABSTRACT**PEDRO DE MOURA SANJAD****AÇÃO DOS MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS NATIVOS DO RIO PARAOPEBA NA DISSOLUÇÃO REDUTIVA DO FERRO, EM SEDIMENTOS DE FUNDO DE TRECHOS ATINGIDOS OU NÃO PELO REJEITO DE MINERAÇÃO DA BARRAGEM I DA MINA DE CÓRREGO DO FEIJÃO (BRUMADINHO, MG)****Orientador:****PROF^a. CAROLINA NEUMANN KEIM**

On January 2019, Dam I of the Córrego do Feijão Mine ruptured in the municipality of Brumadinho, MG. The power of the flurry caused several material damages, in addition to causing the death of more than 250 people. The tailings moved by gravity until they reached the channel of the Paraopeba River, where they were carried by the flow, depositing in the sediments and causing changes in water quality. The tailings contained about 56% iron, mainly in Fe(III) oxihydroxides such as hematite and goethite, minerals that act as carriers of several trace elements in the environment. In the Earth's crust, iron alternates between a more oxidized state (Fe(III) or ferric), which is less soluble, and a more reduced state (Fe(II) or ferrous), which is more soluble. At neutral to alkaline pH, Fe(II) is rapidly oxidized to Fe(III) in the presence of oxygen. The reduction of Fe(III) to Fe(II) is catalyzed by heterotrophic microorganisms in anaerobiosis, which use available Fe(III) as final electron acceptor (dissimilatory iron reduction), or to improve the redox balance (fermentation), reducing it to Fe(II). Since Fe(II) is more soluble than Fe(III), the reduction of Fe(III) to Fe(II) can lead to the mineral dissolution and the release of trace elements into the liquid phase. In this work, we aim to verify the presence and activities of microorganisms that perform reductive dissolution of iron in the sediments of Paraopeba River. To do this, we collected water and sediment samples from three points in the river, one upstream of the region affected by the tailings of Dam I (P1), and the other two downstream of the point where the tailings entered the river (P2 and P3). Water and sediments were used to construct anoxic microcosms, containing or not native microorganisms and added organic substrates. The reductive dissolution of iron was evaluated through analysis of the concentration of Fe(II) in the liquid phase. The results show iron concentrations increasing over time in the experiments containing living microorganisms and glucose or yeast extract, but not in the acetate-containing microcosms, nor in those without added organic matter, nor in the autoclaved microcosms. No significant differences were observed in the Fe(II) concentrations of the liquid phase of microcosms representing P1, P2 and P3 until about 50 days, but thereafter the Fe(II) concentrations in the microcosms representing P1 began to drop, while in the microcosms representing P2 and P3 the Fe(II) concentrations continued to increase, reaching a plateau that was maintained until the end of the experiment at 200 days. We conclude that there are microorganisms capable of reductive dissolution of iron in the sediments of the Paraopeba River, which become active in the presence of fermentable organic substrates. As an unfolding of this work, we suggest the control of discharge of organic effluents and domestic sewage in the Paraopeba River Basin as a way of limiting transfer of trace elements from the sediments to the water column.

RESUMO PARA PESSOAS LEIGAS

PEDRO DE MOURA SANJAD

AÇÃO DOS MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS NATIVOS DO RIO PARAOPEBA NA DISSOLUÇÃO REDUTIVA DO FERRO, EM SEDIMENTOS DE FUNDO DE TRECHOS ATINGIDOS OU NÃO PELO REJEITO DE MINERAÇÃO DA BARRAGEM I DA MINA DE CÓRREGO DO FEIJÃO (BRUMADINHO, MG)

Em Janeiro de 2019 aconteceu o rompimento da Barragem I da mina de Córrego do Feijão, localizada no município de Brumadinho, em Minas Gerais, liberando uma onda de rejeitos de minério de ferro que destruiu várias propriedades e matou mais de 250 pessoas, em um evento que ficou conhecido como “Desastre de Brumadinho”. A enxurrada provocada pelo rejeito percorreu mais de 5 quilômetros, destruindo tudo pelo caminho, até chegar ao Rio Paraopeba, onde se depositou e misturou-se com a água. No rio, o rejeito criou uma pluma que foi carregada pelo curso das águas, depositando-se nos sedimentos. O rejeito dessa barragem continha aproximadamente 56% de ferro, especialmente numa forma mais estável e oxidada denominada Fe(III). O ferro ocorre na natureza em duas formas químicas, a mais oxidada, Fe(III), como mencionado anteriormente, e uma forma mais reduzida e instável, denominada Fe(II). O Fe(II) raramente é encontrado no nosso ambiente normal, visto que ele reage muito rapidamente com o oxigênio e retorna à forma de Fe(III). Já a passagem do Fe(III) para o Fe(II), na natureza, geralmente é catalisada por microrganismos que vivem em anaerobiose (sem O₂) e utilizam o ferro em suas reações metabólicas de obtenção de energia. Esta redução do ferro é denominada “dissolução redutiva” e pode levar à dissolução de elementos-traço, que são elementos químicos que ocorrem em quantidades menores porém são mais tóxicos que o ferro. Com o objetivo de avaliar a dissolução redutiva do ferro pelos microrganismos naturais dos sedimentos do Rio Paraopeba, foram construídos microcosmos, que são experimentos feitos em tubos de ensaio que tentam mimetizar o ambiente, utilizando amostras de água e sedimentos do Rio Paraopeba, coletadas em pontos atingidos e não atingidos pelo rejeito da Barragem I. Em alguns microcosmos foi adicionada matéria orgânica para observar o efeito do lançamento de esgotos sobre o destino de rejeito de mineração, e todos foram incubados em anaerobiose para estimular os microrganismos que fazem a dissolução redutiva do ferro. Nossos resultados mostraram aumento do Fe(II) nos microcosmos que continham matéria orgânica e microrganismos vivos, o que indica que eles se utilizaram do ferro presente nos sedimentos no seu metabolismo, transformando parte do Fe(III) dos sedimentos e do rejeito de mineração em Fe(II) solúvel. Esse efeito foi mais demorado nos microcosmos que representam os pontos do rio atingidos pelo rejeito. Além disso, a presença da matéria orgânica é decisiva para aumentar as taxas de redução do ferro, já que os microrganismos que fazem esse processo de reduzir o ferro são heterotróficos, ou seja, obtém a sua energia a partir da oxidação e decomposição de matéria orgânica. Concluímos que existem microrganismos capazes de realizar a dissolução redutiva de ferro nos sedimentos do Rio Paraopeba, e que eles se tornam ativos na presença de matéria orgânica. Como desdobramento deste trabalho, sugerimos o controle do lançamento de esgotos e outros efluentes no Rio Paraopeba e afluentes, como forma de limitar dissolução de minerais e a transferência de elementos-traço tóxicos dos sedimentos para a água do rio.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem de satélite da localização dos pontos de coleta de amostras.

Figura 2 - Maior aumento das imagens de satélite dos pontos de coleta de amostras.

Figura 3 - Fotografias dos pontos de coleta de amostras.

Figura 4 - Concentrações de Fe(II) solúvel na fase líquida dos microcosmos dos experimentos de tempo curto contendo substratos fermentáveis.

Figura 5 - Concentrações de Fe(II) nos microcosmos contendo o substrato orgânico não fermentável acetato de sódio.

Figura 6 - Concentrações de Fe(II) na fase líquida de microcosmos dos 3 pontos de coleta no Rio Paraopeba, incubados por 213 dias.

Figura 7 - Concentrações de biopolímeros nos sedimentos dos três pontos do Rio Paraopeba.

ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
RESUMO PARA PESSOAS LEIGAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 O Desastre de Brumadinho	1
1.2 Os Ciclos Biogeoquímicos dos Elementos e os Microrganismos.....	4
1.3 O Ciclo Biogeoquímico do Ferro	4
1.4 O Metabolismo Microbiano na Dissolução Redutiva de Fe(III)	6
1.4.1 Redução dissimilatória do Fe(III)	7
1.4.2 Dissolução redutiva do ferro acoplada à fermentação	8
2. JUSTIFICATIVA	9
3. OBJETIVOS.....	10
3.1 Objetivos Gerais.....	10
3.2 Objetivos Específicos.....	10
4. METODOLOGIA	10
4.1 Trabalho de Campo	10
4.2 Microcosmos – Experimento de Tempo Curto.....	13
4.3 Microcosmos – Experimento de Tempo Longo.....	15
4.4 Análise das concentrações de Fe(II) pelo método da ferrozina.....	16
4.5 Análise dos Biopolímeros	17
4.5.1 Quantificação de Proteínas	17
4.5.2 Quantificação de Carboidratos	18
4.5.3 Quantificação de Lipídeos	18
4.5.4 Cálculo do Carbono Biopolimérico Total.....	18
5. RESULTADOS	19
5.1 Experimentos com Microcosmos.....	19
5.1.1 Experimento de Tempo Curto.....	19
5.1.2 Experimento de Tempo Longo.....	22
5.2 Quantificação de Biopolímeros.....	23
6. DISCUSSÃO.....	24
7. REFERÊNCIAS	30

1. Introdução

Em Janeiro de 2019 ocorreu o rompimento da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão, localizada no município de Brumadinho, estado de Minas Gerais. A onda de rejeitos originada do acidente arrasou casas e outras propriedades, além de causar muitas mortes humanas e de animais, até chegar à calha do rio Paraopeba, onde se misturou e contaminou a água, criando uma pluma de rejeitos de minério (Atif, Cawood & Mahboob, 2020). Dada a magnitude deste desastre, supõe-se que poderiam ocorrer desequilíbrios da dinâmica do ciclo do ferro e elementos-traço no Rio Paraopeba (Silva, 2019).

Nos óxidos e hidróxidos de ferro encontrados no rejeito de mineração de ferro, há predominância da forma Fe(III), que, em condições anaeróbias e na presença de matéria orgânica, pode vir a ser reduzido a Fe(II) por determinados microrganismos com características bioquímicas particulares, o que pode resultar em dissolução de minerais, liberando Fe(II) e elementos-traço que porventura se encontrem neles.

1.1 O desastre de Brumadinho

O Brasil sofreu dois acidentes envolvendo barragens de contenção de rejeitos de minério de ferro em um curto espaço de tempo. Em 5 de novembro de 2015, uma barragem administrada pela mineradora SAMARCO S.A., de propriedade da Vale S.A. (brasileira) e da BHP Billiton (australiana) se rompeu no município de Mariana, no estado de Minas Gerais, gerando uma grande enchente que matou 19 pessoas e atingiu parte da bacia hidrográfica do rio Doce, a partir do Córrego Santarém, seguindo os rios do Carmo e Gualaxo do Norte até chegar ao Rio Doce propriamente dito, afetando a vida de milhares de pessoas, e carregando os rejeitos de minério até a foz, já no estado do Espírito Santo (Segura *et al.*, 2016; Carmo *et al.*, 2017). Pouco mais de três anos depois, em 25 de Janeiro de 2019, outro desastre semelhante ocorreu: a Barragem I da Mina de Córrego do Feijão, pertencente à mineradora Vale S.A., se rompeu no município de Brumadinho, também no estado de Minas Gerais. Os rejeitos de minério de ferro liberados neste rompimento se moveram por cerca de 5,3 quilômetros, causando uma verdadeira onda de lama que arrasou instalações da mineradora, e depois seguiu pela planície de inundação do Ribeirão Ferro-Carvão, soterrando partes de bairros rurais do município de Brumadinho, propriedades rurais e estradas até chegar à calha do Rio Paraopeba. A partir daí, o rejeito foi carregado pelas águas através do curso do rio (Atif, Cawood & Mahboob, 2020; Silva Rotta *et al.*, 2020).

Em comparação ao desastre de Mariana, cujo problema ambiental ficou mais evidente, a tragédia de Brumadinho teve uma letalidade humana bem maior. De acordo com o último

informativo disponibilizado pela Defesa Civil do estado de Minas Gerais, o rompimento da barragem levou 260 pessoas a óbito (Defesa Civil do Estado de Minas Gerais, boletim de 28 de Maio de 2021). O número de pessoas atingidas fica muito maior se for levado em conta o número de feridos, desabrigados, desalojados, ou que tiveram danos materiais.

Sem desconsiderar a tragédia humana do desastre, a destruição ambiental também merece destaque. A força da enxurrada de rejeito de minério de ferro provocou a destruição da mata ciliar, a morte de centenas de animais terrestres, soterramento de plantações e pastagens, e gerou uma pluma de rejeitos que foi carregada pelo Rio Paraopeba, levando a morte animais e macrófitas aquáticos e a interrupção no fornecimento de água para várias cidades que ficam localizadas a jusante da barragem, como Mário Campos, São Joaquim de Bicas e Juatuba (Atif, Cawood & Mahboob, 2020; Silva Rotta *et al.*, 2020; Thompson *et al.*, 2020; Vergilio *et al.*, 2020).

A Barragem I da Mina de Córrego do Feijão foi construída a partir de 1976 pela Ferteco Mineração, pelo método de alteamento a montante. A altura da barragem era de 86 metros, sendo o comprimento da crista de 720 metros. Os rejeitos dispostos ocupavam uma área de 249,5 mil m² e um volume de 11,7 milhões de m³. Segundo a VALE, atual proprietária da mina, a barragem estava inativa, não tinha a presença de lago, e não existia nenhum outro tipo de atividade operacional em andamento. A empresa de consultoria TUV SUD Brasil garantiu a estabilidade da barragem através de uma Declaração de Condição de Estabilidade, emitida em 26/09/2018 (VALE S.A., 2019; Silva Rotta *et al.*, 2020).

Wolff *et al.* (2010) mostraram que o rejeito de mineração da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão continha 56,3% Fe, 4,6% Mn, 1,3% Al e 0,3% P, sendo estes componentes distribuídos em 65% hematita (Fe₂O₃), 16% goetita (FeOOH) e 19% de outros minerais (muscovita, gibbsita, caulinita, quartzo e talco). A maior parte do ferro encontra-se na forma Fe(III).

A Agência Nacional de Águas (ANA), o Instituto Mineiro de Gestão de Águas (IGAM), a Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA), e o Serviço Geológico do Brasil (CPRM) formaram uma força-tarefa de órgãos públicos para monitorar a qualidade da água do Rio Paraopeba após o rompimento da barragem. De acordo com o relatório emitido pela força-tarefa em 23 de dezembro de 2019, parâmetros como a turbidez haviam diminuído ao longo do tempo, e também conforme se aumentava a distância do ponto de descarga do rejeito (foz do Ribeirão Ferro-Carvão) (IGAM, 2020). Com relação aos metais, as análises feitas em intervalos menores que um mês após o desastre mostram concentrações de ferro, manganês e alumínio maiores do que as mais atuais, observadas no ano de 2020 (Tabela 1). No entanto, o Rio Paraopeba já apresentava as concentrações de alguns metais (principalmente manganês e

alumínio) acima dos valores máximos preconizados pela resolução do CONAMA n° 357, de 17 de março de 2005, que estabelece os limites de poluentes encontrados nas águas superficiais (IGAM, 2020).

A Tabela 1 mostra uma lista de parâmetros com valores acima do máximo permitido pela legislação, além de valores de oxigênio dissolvido (OD) e pH, obtidos antes e depois do desastre, a montante e a jusante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão, por onde o rejeito da Barragem I entrou no Rio Paraopeba. É possível observar que todos os valores médios para alumínio dissolvido e manganês total estão acima do máximo permitido conforme a legislação, em pontos e/ou períodos afetados ou não pelo rompimento da barragem, indicando não conformidade em relação a esses parâmetros independentemente do rompimento da Barragem I. Por outro lado, os valores para manganês total e turbidez aumentaram em áreas a jusante da foz do Ribeirão ferro-carvão.

Tabela 1: Concentrações de metais, oxigênio dissolvido, valores de pH e turbidez da água do Rio Paraopeba antes e depois do desastre, em área atingida (P3) e não atingida (P1) pelo rejeito de mineração de ferro da Barragem I, comparados com a legislação vigente. Resultados das médias \pm desvio padrão. Os valores destacados em negrito indicam não-conformidades.

Ano	Trecho do Rio	Al dissolvido (mg/L)*	Fe dissolvido (mg/L)*	Mn total (mg/L)*	O ₂ dissolvido (mg/L)*	pH*	Turbidez (UNT)*
2012 a 2018	Rio Paraopeba a montante (P1)		0,28 \pm 0,15	0,32 \pm 0,33	8,0 \pm 0,5	7,1 \pm 0,4	74 \pm 104
	Rio Paraopeba a jusante (P3)		0,22 \pm 0,12	0,24 \pm 0,25	7,7 \pm 0,5	7,2 \pm 0,3	65 \pm 97
2019	Rio Paraopeba a montante (P1)	0,13 \pm 0,07	0,27 \pm 0,16	0,27 \pm 0,28	8,1 \pm 0,8	7,2 \pm 0,4	69 \pm 74
	Rio Paraopeba a jusante (P3)	0,14 \pm 0,08	0,29 \pm 0,14	0,6 \pm 0,5	7,8 \pm 0,4	7,0 \pm 0,4	112 \pm 128
2020	Rio Paraopeba a montante (P1)	0,23 \pm 0,09	0,46 \pm 0,12	0,65 \pm 0,17	7,5 \pm 0,4	6,9 \pm 0,7	263 \pm 96
	Rio Paraopeba a jusante (P3)	0,27 \pm 0,14	0,54 \pm 0,12	1,04 \pm 0,26	8,0 \pm 0,1	6,9 \pm 0,9	280 \pm 48
Resolução CONAMA 357 (Águas doces, Classe 2)		< 0.1	< 0.3	< 0.1	\geq 6	6.0 - 9.0	\leq 40

*Dados compilados a partir de dados brutos do IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas) (dados disponíveis em: <http://200.198.57.118:8080/handle/123456789/405> e <http://igam.mg.gov.br/component/content/article/16-duvidas/2438--acessar-dados-e-boletins-de-qualidade-das-aguas-em-minas-gerais-temporario>, páginas visitadas em 03-06-2021).

Além dos fatores geoquímicos naturais, que podem contribuir para as não conformidades das concentrações de metais na água do Rio Paraopeba, este também está sob influência de atividades agropecuárias, indústrias, lançamento de esgotos não tratados de cidades, além de outras mineradoras, que lançam seus efluentes e resíduos sólidos no rio devido à falta de saneamento básico e fiscalização adequada (ANA, 2012). Cenário este observado desde a sua nascente ao sul do município de Cristiano Ottoni, em Minas Gerais (Coordenadas: 20°52'33.2"S - 43°50'26.8"O) (Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, 2021).

1.2 Os Ciclos Biogeoquímicos dos Elementos e os Microrganismos

Os ciclos biogeoquímicos representam processos complexos e contínuos que envolvem elementos químicos na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. Incluem as interações dos elementos químicos com os seres vivos, os processos biológicos, geológicos e/ou químicos de que participam (e quais organismos ou fatores atuam) e as formas químicas que se apresentam em cada uma de suas fases. Os ciclos biogeoquímicos mostram as relações ecológicas e papéis desempenhados por cada elemento químico na dinâmica funcional do planeta. Apesar de todos eles estarem acontecendo simultaneamente e de forma constante, cada elemento químico representado por um destes ciclos apresenta suas peculiaridades e, portanto, não há uniformidade de processos (Powers & Marrín-Spiotta, 2017).

Os macro-organismos, como animais e plantas, têm participação importante nessas ciclagens, porém grande parte das reações de oxidorredução responsáveis pelas transformações químicas é catalisada por microrganismos (Tosca *et al.*, 2019). Especialmente quando falamos dos ciclos do carbono (C), nitrogênio (N), enxofre (S), ferro (Fe) e manganês (Mn), os microrganismos são responsáveis por quase todas as reações de oxidorredução que resultam na ciclagem destes elementos (Slesak, Slesak & Kruk, 2012). Quando visto pelos olhos da microbiologia, a presença ou a ausência de O₂ é determinante para se dizer (I) quais reações (bio)químicas estão ocorrendo, e (II) quais seres vivos as estão realizando (Xiao *et al.*, 2016). Isto porque muitas das reações bioquímicas microbianas que ocorrem em anaerobiose são distintas daquelas que ocorrem em aerobiose (Konhauser, Kappler & Roden, 2011; Wang, Sun & Zhu, 2017).

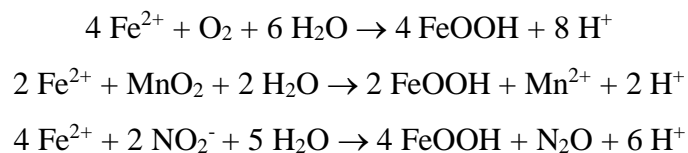
1.3 O Ciclo Biogeoquímico do Ferro

O ferro (Fe) é um elemento químico pertencente ao grupo dos metais de transição na tabela

periódica, tendo número atômico 26 e massa atômica relativa de 55,845 u. É um dos metais mais conspicuos na crosta terrestre, e tem diversas funções bioquímicas e fisiológicas nos seres vivos, desde microrganismos unicelulares até mamíferos de grande porte, incluindo os seres humanos (Shubham *et al.*, 2020; Valenzuela-Muñoz *et al.*, 2020; van Swelm, Wetzels e Swinkels, 2020).

Na natureza, o ferro pode ser encontrado em três estados de oxidação distintos. O Fe⁰ não será abordado neste trabalho, visto que essa forma do ferro só é encontrada no núcleo da Terra devido às condições extremas de temperatura e pressão, ou em ligas metálicas após o processo de fundição nas indústrias siderúrgicas (Noubactep, 2013; Pourovskii, 2019). O Fe(II) (Fe²⁺ ou ferroso) e o Fe(III) (Fe³⁺ ou férrico) são as formas comumente encontradas na crosta terrestre, geralmente associados a outros elementos formando minerais, como os óxidos de ferro hematita (α -Fe₂O₃), goetita (α -FeOOH) e magnetita (Fe₃O₄) (Duarte, 2019), ou os sulfetos de ferro pirita (FeS₂), pirrotita (Fe_{1-x}S) e mackinawita (FeS) (Rickard e Luther, 2007).

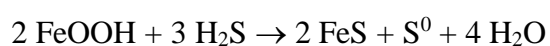
Na superfície do planeta, o ferro se alterna entre os estados de oxidação 2+ e 3+, em um processo que é denominado “ciclo redox”. O Fe(II) pode ser oxidado a Fe(III) quando reage com O₂ ou outro acceptor de elétrons, como o Mn(IV) ou o nitrito (Melton *et al.*, 2014), conforme as reações abaixo:



A reação de oxidação do Fe(II) a Fe(III) pelo O₂ dissolvido é favorecida em pH neutro ou alcalino em condições normais de temperatura e pressão, fazendo com que o Fe(III) seja a forma predominante nos ambientes aeróbios (Jiang *et al.*, 2019).

Nos ambientes ácidos e também nos microaeróbios, a oxidação química do Fe(II) pelo O₂ é muito lenta. Nestes casos, a oxidação microbiana torna-se a principal via de oxidação do Fe(II) a Fe(III). Em ambientes anaeróbios, a oxidação do Fe(II) a Fe(III) pode ser catalisada por microrganismos que utilizam nitrato como acceptor final de elétrons (Madigan *et al.*, 2016).

Na fase redutiva do Ciclo Redox do ferro, o Fe(III) é convertido a Fe(II). Esta pode ser uma reação química espontânea, por exemplo através de reação com H₂S, que pode ocorrer no hipolímnio de lagos estratificados e em sedimentos de ambientes aquáticos (Melton *et al.*, 2014):



Neste caso, apesar de ser uma reação química, as bactérias redutoras de sulfato exercem papel fundamental na maioria dos ambientes, produzindo H₂S. Além do papel indireto das bactérias redutoras de sulfato, os microrganismos podem ter um papel direto na redução de Fe(III) a Fe(II). Algumas espécies são capazes de acoplar a oxidação de matéria orgânica a redução de Fe(III) a Fe(II), por exemplo *Geobacter metallireducens* ou *Shewanella oneidensis*. Em geral, o Fe(III) ocorre em sólidos, como os óxidos/hidróxidos de ferro ferrihidrita, goetita e hematita, e os microrganismos podem crescer aderidos aos minerais e produzir pili condutores para facilitar a redução do ferro (Melton *et al.*, 2014).

O Fe(II) é mais solúvel em água do que o Fe(III). Desta forma, reações de oxido-redução são frequentemente acompanhadas de dissolução ou precipitação de minerais. O Fe(III), assim que é formado, tende a se associar a hidroxilas ou ao oxigênio da água, precipitando rapidamente, formando minerais como a ferrihidrita (Fe³⁺₁₀O₁₄(OH)₂) e a goetita (FeOOH). Os óxidos e hidróxidos de ferro são minerais de densidade maior que a da água, e tendem a se depositar nos sedimentos dos rios, lagos e oceanos, particularmente em locais de baixa energia. Já o Fe(II) é uma forma mais solúvel, o que torna as concentrações deste metal na coluna d'água mais altas em ambientes anaeróbios (Lovley, 1987). Dependendo das condições ambientais (pH, concentração de sulfeto, etc), o Fe(II) produzido por ação direta ou indireta de microrganismos pode ser precipitado como magnetita ou sulfeto ferroso (Lovley, 1991). Em geral, quanto maior o pH, maior a fração de Fe(II) e Fe(III) precipitado. O mineral a ser formado depende das concentrações de carbono, sulfeto e fosfato inorgânico disponíveis, assim como do Eh (Bell, Mills e Herman, 1987).

1.4 O metabolismo microbiano na dissolução redutiva de Fe(III)

Há duas possibilidades de redução de Fe(III) a Fe(II) por microrganismos: redução dissimilatória de ferro, que é um processo de respiração anaeróbia; e a redução do ferro como forma de melhorar o balanço redox na fermentação. Através de qualquer destes mecanismos, microrganismos anaeróbios desempenham papel importante na etapa de redução do ciclo biogeoquímico do ferro, sendo responsáveis pela maior parte da redução do Fe(III) de minerais da superfície do planeta (Lovley, 1987; Taylor e Konhauser, 2011).

1.4.1 Redução dissimilatória do ferro

Tendo como base as descobertas que elucidaram as vias bioquímicas pelas quais alguns microrganismos podem reduzir o ferro na respiração anaeróbia (Luo, Meng, e Gu, 2017), foi proposto que este processo de redução dissimilatória de ferro pode utilizar três estratégias distintas para transferir elétrons para o Fe(III) dos minerais, sendo elas: (i) através de contato direto entre o microrganismo e o óxido de ferro; (ii) pela redução de carreadores de elétrons solúveis (*electron shuttles*); ou (iii) pela solubilização de Fe(III) através de quelantes orgânicos seguida de redução do Fe(III), liberando Fe(II) solúvel e o quelante livre para que possa dissolver mais Fe(III) (Weber, Achenbach e Coates, 2006; Bird, Bonnefoy e Newman, 2011; Konhauser, Kappler e Roden, 2011; Tikhonova e Popov, 2014).

Algumas espécies de bactérias, como a *Geobacter sulfurreducens* e *G. metallireducens*, necessitam de um contato direto com a superfície de um mineral para crescer em condições anaeróbias (Reguera *et al.*, 2005), e para isso elas secretam filamentos finos conhecidos como “pili” condutores de eletricidade (e-pili) ou nano-fios (*nanowires*), capazes de transferir elétrons da célula para aceptores finais de elétrons localizados a vários micrômetros de distância (Bird, Bonnefoy e Newman, 2011; Lovley e Holmes, 2020). Ainda não se tem um consenso dentro da literatura científica sobre a identidade molecular destes nano-fios, sendo que um grupo de pesquisa defende que seriam pilinas do tipo IV enriquecidas em aminoácidos aromáticos, onde os anéis aromáticos estariam organizados no filamento de modo a transferir os elétrons ao longo do filamento (Lovley e Holmes, 2020); e outro grupo propõe que se trata de polímeros dos citocromos multi-heme “OmcS” e/ou “OmcZ”, onde os alinhamento dos grupamentos heme ao longo dos filamentos seria responsável pela elevada condutividade elétrica (Wang *et al.*, 2019; Yalcin *et al.*, 2020).

O segundo e o terceiro mecanismos não necessitam de um contato direto do microrganismo com o mineral de ferro. Microrganismos redutores de ferro como *Shewanella oneidensis* podem fazer uso de transportadores de elétrons solúveis (*electron shuttles*), sendo que essas substâncias podem ser produzidas pelas próprias células (ex. riboflavinas), ou exógenas (ex. antraquinona-2,6-dissulfonato; substâncias húmicas e compostos sulfurosos, sintetizadas natural ou artificialmente). Essas moléculas solúveis são capazes de fazer a transferência de elétrons entre a célula e o óxido/hidróxido férrico (daí o nome em inglês: “electron shuttle”). Para que isto ocorra, estes transportadores recebem elétrons na superfície da célula, e doam os elétrons para um acceptor extracelular, como o Fe(III) em um mineral, tornando-se oxidados. Na forma oxidada, podem novamente receber elétrons das células, tornando-se reduzidos e reiniciando o ciclo. Espécies de *Shewanella* (*S. baltica*, *S. oneidensis* e *S. frigidimarina*) secretam riboflavinas e flavina mononucleotídeo, porém as espécies cultivadas do gênero *Geobacter* aparentemente

não produzem moléculas solúveis específicas para transferência de elétrons. Mesmo assim, a redução de Fe(III) a Fe(II) é estimulada pela adição de moléculas solúveis capazes de fazer a transferência extracelular de elétrons, como flavinas, quinonas e substâncias húmicas (Bird, Bonnefoy e Newman, 2011; Wu *et al.*, 2014).

Já no terceiro mecanismo, de redução mediada por ligantes, bactérias como *Shewanella alga*, *S. putrefaciens* e *S. oneidensis* secretam substâncias solúveis com grande afinidade por Fe(III), que funcionam como quelantes e são capazes de acelerar a dissolução da fase sólida dos cristais do óxido/hidróxido de Fe(III), transformando o Fe(III) em uma forma organometálica, mais solúvel, e mais facilmente reduzida na superfície das células microbianas. No processo, o complexo organometálico é desfeito, com o ferro sendo liberado na forma iônica reduzida (Fe^{2+}), e a parte orgânica permanecendo com o centro de ligação do Fe(III) vazio e apto a capturar novos átomos de Fe(III) dos minerais (Weber, Achenbach e Coates, 2006; Bird, Bonnefoy e Newman, 2011).

É comum a precipitação de minerais de Fe(II) em culturas de bactérias que fazem a redução dissimilatória de ferro. Dentre estes minerais, destacam-se a magnetita (Fe_3O_4), a vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), a siderita (FeCO_3), e “green rust” ($\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (Lovley e Phillips, 1988; Fredrickson *et al.*, 1998).

1.4.2 Dissolução redutiva do ferro acoplada a fermentação

Apesar de que hoje boa parte dos estudos sobre a redução do Fe(III) a Fe(II) pela ação dos microrganismos se utilize de cepas dos gêneros *Geobacter* e *Shewanella*, os primeiros sinais da ação dos microrganismos nesse processo foram descobertos em microrganismos fermentadores (Lovley e Phillips, 1986; Lehours *et al.*, 2010).

Já foi mostrado que as concentrações de vários produtos finais de fermentação aumentam de forma diretamente proporcional ao aumento da concentração de Fe(II) em experimentos de cultura pura, mostrando que, de fato, o Fe(III) pode ser um aceptor de elétrons para melhorar o balanço redox de microrganismos fermentadores em ambientes anaeróbios (Dobbin *et al.*, 1999; Lehours *et al.*, 2010; List *et al.*, 2019).

Em *Clostridium beijerinckii*, foi localizada atividade de Fe(III) redutase dependente de NAD(P)H na membrana das células, atividade esta que não era sensível a inibidores da cadeia transportadora de elétrons. Este microrganismo cresce mais e mais rápido na presença de citrato férrico, produzindo produtos de fermentação menos ácidos (Dobbin *et al.*, 1999). Em estudos mais recentes da bioquímica de *Clostridium acetobutylicum*, foi sugerido que a redução do Fe(III) acoplada à fermentação estaria associada a oxidação de ferredoxina e/ou NAD(P)H.

Como resultado, foi observado que na presença de Fe(III) a produção de butirato aumentava, enquanto que a de butanol diminuía (List *et al.*, 2019).

2. Justificativa

No desastre de Brumadinho, foram disponibilizadas grandes quantidades de minerais de Fe(III), abundantes no rejeito de minério, com tamanhos de grãos reduzidos (e, portanto, potencialmente mais reativos), juntamente com minerais mais estáveis, como o quartzo, no ambiente (Teramoto *et al.*, 2021).

Em sedimentos fluviais, o transporte de oxigênio se dá principalmente por difusão, que é um processo lento em relação a taxa de consumo do oxigênio dissolvido na maioria dos ambientes. A entrada de matéria orgânica no sistema favorece o aumento do metabolismo dos microrganismos, e leva ao consumo de oxigênio dissolvido, levando camadas localizadas a apenas alguns milímetros ou centímetros abaixo da superfície dos sedimentos à anoxia (Brune, Frenzel e Cypionka, 2000).

A matéria orgânica oriunda do lançamento de esgotos domésticos não tratados, além de efluentes de origem agropecuária e industrial, e de matéria orgânica de origem natural, poderia propiciar um ambiente anóxico e rico em matéria orgânica, condições adequadas para o desenvolvimento de microrganismos capazes de usar o Fe(III) como aceptor final de elétrons, gerando Fe(II), que pode tornar-se solúvel ou não, dependendo das condições ambientais.

O ferro em si, quando dissolvido na água em grandes quantidades, não necessariamente significa grandes problemas de saúde pública. É mais comum se ter relatos de problemas por carência de ferro, como a anemia, por exemplo, do que por excesso. O ferro só se torna tóxico se consumido em quantidades exageradamente altas, provocando quadros sintomáticos gastrointestinais (Mahalhal *et al.*, 2021). O que pode representar um problema é que a redução do Fe(III) a Fe(II) leva a dissolução de minerais e, portanto, outros elementos presentes nos minerais do rejeito poderiam ser dissolvidos e disponibilizados para o ambiente juntamente com o Fe(II). Alguns destes elementos podem ser tóxicos para plantas, animais, microrganismos e também o ser humano em concentrações bem menores que o ferro, como, por exemplo, o cádmio (Cd) e o arsênio (As). Desta forma, o principal problema que pode resultar da dissolução redutiva do ferro no Rio Paraopeba (e em outros locais ricos em óxidos de ferro) seria a dissolução de elementos-traço, que poderiam atingir concentrações tóxicas na água (Nealson, 1994; Campbell *et al.*, 2006; Dai *et al.*, 2018.).

Tendo como base os motivos citados acima, este trabalho se desdobra nas seguintes hipóteses: (I) se o Fe(III) presente nos rejeitos de minério de ferro presentes nos sedimentos do Rio Paraopeba poderia ser reduzido a Fe(II) pelos microrganismos nativos, e (II) se uma maior disponibilidade de matéria orgânica poderia favorecer os processos metabólicos que culminam na redução do ferro.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Compreender como os microrganismos nativos poderiam atuar na etapa redutiva do ciclo biogeoquímico do ferro no Rio Paraopeba, em trechos atingidos ou não pelo rejeito de mineração da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão.

3.2 Objetivos Específicos

- Observar, a nível de microcosmos, os efeitos da adição de matéria orgânica fermentável e não fermentável, simples e complexa, sobre a dissolução redutiva do ferro pela microbiota anaeróbia dos sedimentos do rio Paraopeba de trechos de rio atingidos e não atingido, na presença ou ausência de microrganismos vivos.
- Quantificar as concentrações de proteínas, carboidratos e lipídeos nos sedimentos superficiais do Rio Paraopeba como formas de avaliar o estado trófico e a concentração de matéria orgânica biodegradável de trechos atingidos e não atingidos pelo rejeito de mineração da Barragem I.

4. Metodologia

4.1 Trabalho de campo

As amostras de água e sedimentos foram coletados em 3 pontos distintos do Rio Paraopeba na mesma data, em 27 de Julho de 2019 (Figuras 1-3), sendo denominados **P1** o ponto a montante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão, que é o ponto de entrada do rejeito no Rio Paraopeba (GPS -20.1761, -44,16226); **P2** um ponto a jusante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão, porém a montante da cidade de Brumadinho (GPS -20.14978, -44.17894); e **P3** um ponto a jusante tanto do ponto de entrada do rejeito no rio, quanto da cidade de Brumadinho (GPS -20.08392, -44.20759). Esta diferenciação dos pontos de coleta permite, além de avaliar os impactos do acidente, compreender a associação entre os impactos do rejeito de minério de ferro e do

lançamento de efluentes domésticos da cidade de Brumadinho. Para 2020, o município conta com uma estimativa de 40.600 habitantes, sendo desse total 65,4% tem acesso a tratamento de esgoto, de acordo com o IBGE.

Para este estudo, não foi necessário procedimentos de descontaminação, pois o Fe(II) é instável em ambiente aeróbio. No momento da coleta, primeiro coletou-se a água e depois o sedimento superficial (10 cm superiores), e o transporte do material foi feito em temperatura ambiente e ao abrigo da luz solar.

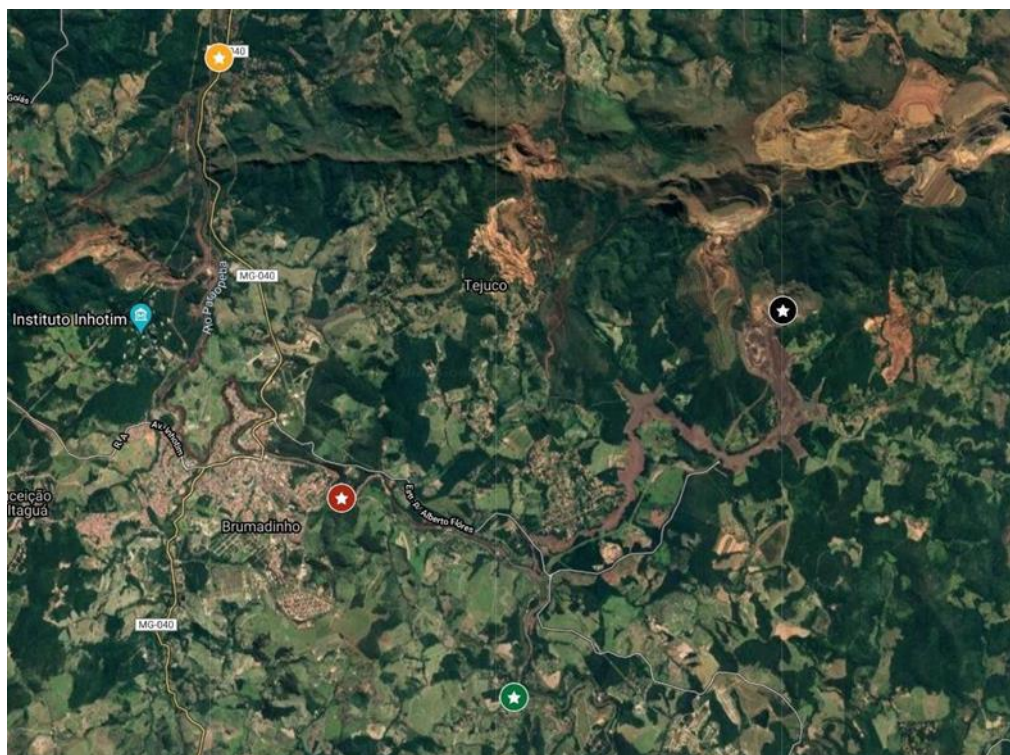


Figura 1: Imagem de satélite da localização dos pontos de coleta de amostras. P1: verde; P2: vermelho; P3: laranja. Em preto está indicada a localização da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão (imagem obtida do Google Maps em 19-09-2019).



Figura 2: Maior aumento das imagens de satélite dos pontos de coleta de amostras. A) Foz do Ribeirão Ferro-Carvão, mostrando o ponto de entrada do rejeito da Barragem I no Rio Paraopeba e um enorme depósito de rejeito de mineração na calha do rio. B) Ponto de coleta P1 (marcador verde), a montante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão (na imagem A), e não atingido pelo rejeito. C) Ponto de coleta P2 (marcador vermelho), a jusante do encontro do rejeito com o rio. D) Ponto de coleta P3 (marcador laranja), a jusante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão e da cidade de Brumadinho. Pode-se observar as diferenças de coloração da água do rio nas áreas atingidas (C, D) e não atingidas (A, B) pelo rejeito de mineração da Barragem B1. Imagens obtidas do Google Maps em 19-09-2019.



Figura 3: Fotografias dos pontos de coleta de amostras. A) O ponto P1, a montante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão. B) O ponto P2, onde é possível ver um imenso depósito de rejeitos formando uma praia a direita da calha do rio. C) O ponto P3, onde a praia de rejeitos ainda está presente, porém de uma forma mais descontínua. D) Detalhe dos sedimentos do ponto P2, consistindo principalmente de rejeito de mineração. Observe a diferença de coloração da água nos três pontos.

4.2 Microcosmos - Experimentos de Tempo Curto

Com o intuito de avaliar a dissolução redutiva do ferro dos sedimentos do Rio Paraopeba por microrganismos nativos, foram construídos microcosmos, que consistiam em pequenos ambientes controlados contendo água e sedimento do rio. Para isso, tubos de ensaio de vidro, de volume 9 mL, vedados com tampa plástica de rosca foram autoclavados para esterilização.

Antes de preparar os microcosmos, a água do rio coletada em cada ponto foi misturada a um tipo diferente de substrato orgânico, sendo eles: glicose nas concentrações 3 ou 15g/L; extrato de leveduras nas concentrações 4 ou 20g/L; ou acetato de sódio nas concentrações 6,8 ou 34g/L. Para os controles vivos sem adição de matéria orgânica, foi utilizada água do rio. Os controles autoclavados foram montados com água contendo glicose a 15 g/L e sedimentos do rio, ambos autoclavados antes da montagem dos microcosmos. Cada tubo recebeu 7 mL de água do rio e 2

mL de sedimento úmido, de forma que ficassem completamente preenchidos. Os tubos foram bem fechados e então incubados por 1, 2, 3, ou 4 semanas a 25°C, no escuro, em uma estufa para demanda bioquímica de oxigênio (BOD). Cada experimento foi realizado em sextuplicata. A Tabela 2 mostra uma lista dos microcosmos montados para este trabalho.

As concentrações de substratos orgânicos tomaram como base a concentração de carbono orgânico presente no meio de cultura FWA utilizado no cultivo de *Geobacter metallireducens*, conforme Lovley e Phillips (1988).

A cada semana, 6 microcosmos de cada um dos experimentos eram retirados da estufa. De cada um, eram retiradas alíquotas de 1,35 mL da fase líquida e colocadas em microtubos de polipropileno de 1,5 mL contendo 0,15 mL de HCl 10 Mol/L, para atingir a concentração final de 1Mol/L. A pronta acidificação da amostra utilizando HCl garante a manutenção da concentração do Fe(II) da amostra até a realização da análise das concentrações de Fe(II), e impede que este se re-oxide a Fe(III).

Tabela 2: Experimentos realizados com microcosmos.

Local de coleta de sedimento e água	Fontes de carbono e elétrons	Estado dos microrganismos	N	Tempo (dias)
<i>Experimento curto</i>				
P1	controle negativo?	Vivos	6	7, 14, 21 e 28
	Acetato 6,8 g/L			
	Acetato 34 g/L			
	Extrato de leveduras 4 g/L			
	Extrato de leveduras 20 g/L			
	Glicose 3 g/L			
	Glicose 15 g/L			
	Glicose 15 g/L	autoclavados		
P2	0	Vivos	6	7, 14, 21 e 28
	Acetato 6,8 g/L			
	Acetato 34 g/L			
	Extrato de leveduras 4 g/L			
	Extrato de leveduras 20 g/L			
	Glicose 3 g/L			
	Glicose 15 g/L			
	Glicose 15 g/L	Autoclavados		
P3	0	Vivos	6	7, 14, 21 e 28
	Acetato 6,8 g/L			
	Acetato 34 g/L			
	Extrato de leveduras 4 g/L			
	Extrato de leveduras 20 g/L			
	Glicose 3 g/L			
	Glicose 15 g/L			
	Glicose 15 g/L	Autoclavados		
<i>Experimento longo</i>				
P1	Glicose 15 g/L	Vivos	3	14, 28, 42, [...] 365
P2				
P3				

4.3 Microcosmos - Experimentos de Tempo Longo

Com o objetivo de observar se haveria esgotamento do Fe(III) passível de ser reduzido dos minerais dos sedimentos nos três pontos do Rio Paraopeba, construímos microcosmos em frascos de penicilina (*serum bottles*) de 100 mL autoclavados, contendo 60 mL de água do Rio Paraopeba de cada ponto de coleta contendo 1,5g de glicose, e 40 mL de sedimento úmido do ponto de coleta correspondente.

Os frascos foram então lacrados para criar um ambiente anaeróbio após o consumo do oxigênio contido no frasco pelos microrganismos nativos. Os frascos foram incubados em uma estufa tipo BOD, no escuro, a 25°C, por 11 meses. Este experimento foi feito em triplicata.

A cada duas semanas, foram retiradas alíquotas de 1,35 mL da fase líquida desses microcosmos utilizando seringas e agulhas descartáveis, que foram transferidas para microtubos de polipropileno de 1,5 mL contendo 0,15 mL de HCl a 10 Mol/L para acidificação das amostras e manutenção das concentrações de Fe(II). Posteriormente, as concentrações de Fe(II) foram determinadas pelo método da ferrozina, conforme descrito no item 4.4.

Após cada retirada das alíquotas para análise, 18,65 mL da fração líquida dos microcosmos era retirada e desprezada, sendo a seguir substituída por uma nova amostra de 20 mL de água do Rio Paraopeba do ponto de coleta correspondente contendo 1,5 g de glicose, utilizando seringas e agulhas descartáveis. Após a introdução das soluções nos frascos, estes foram agitados gentilmente para homogeneização e novamente incubados por mais duas semanas, quando o processo de retirada de amostras e substituição de parte da fração líquida com reposição da glicose era repetido.

4.4. Análise das concentrações de Fe(II) pelo método da ferrozina

Para determinar as concentrações de Fe(II), foi utilizado o método colorimétrico da ferrozina (Viollier *et al.*, 2000), que necessitou do seguinte material, preparado no laboratório:

- Ferrozina (Supelco, $\geq 97.0\%$) a 0,01 mol/L, em acetato de amônio 0,1 mol/L;
- Tampão acetato de amônio a 5 mol/L, pH 9,2 ajustado com hidróxido de amônio;
- Água destilada;
- HCl em solução aquosa 1 Mol/L;
- Soluções-padrão de sulfato ferroso nas concentrações 5, 10, 50, 100 e 150 mMol/L dissolvidas em HCl a 1 Mol/L para determinação da curva-padrão.

Primeiramente, em cada tubo de ensaio, foi colocado 200 μ L de ferrozina diluída em acetato de amônio. Em seguida, era colocado 1 mL da amostra acidificada retirada dos microcosmos, ou solução-padrão. Para os brancos, foi utilizada solução de HCl 1 Mol/L ao invés de amostra. Após isso, para equilibrar o pH da amostra na faixa de 4 a 9, era adicionado 500 μ L de tampão acetato de amônio e finalizava-se o protocolo adicionando-se 300 μ L de água destilada. Alguns microcosmos excederam a concentração da faixa de linearidade do método. Nesses casos, foi utilizada solução de HCl a 1 Mol/L para diluir as amostras até que se adequassem à faixa de leitura da técnica utilizada.

A interação da ferrozina com o Fe(II) gera um composto de cor magenta com intensidade de cor proporcional a concentração de Fe(II), que pode ser avaliada por absorvância no

espectrofotômetro, em comprimento de onda de 562 nm. Para cada rodada de leitura das amostras, era realizada uma curva-padrão de calibração, com concentrações pré-estabelecidas de Fe(II), e dois frascos usados como brancos. As absorvâncias encontradas em cada tubo analisado foram anotadas em uma planilha no programa Microsoft Excel®. Os cálculos de conversão incluíram o cálculo de uma constante K , que era obtida a partir da média aritmética dos resultados das razões entre o valor de graus de absorvância e as concentrações das soluções padronizadas. Para obtenção dos valores de concentração de Fe(II) nas amostras, os resultados de absorvância eram divididos pela constante K . Os resultados eram multiplicados por 0,9, como fator de correção pela adição de HCl as amostras. Os valores de médias e desvio padrão foram calculados, e gráficos do tipo “scatter-plot” apresentando as concentrações de Fe(II) nos microcosmos ao longo do tempo foram produzidos, utilizando-se o software SciDAVis.

4.5. Análise dos Biopolímeros:

Com o intuito de analisar as concentrações de matéria orgânica biopolimérica presente nos sedimentos do Rio Paraopeba, foram feitas análises quantitativas de proteínas, carboidratos, e lipídeos utilizando métodos colorimétricos, no laboratório da Prof^a Mirian Crapez da Universidade Federal Fluminense (UFF). Foram utilizadas amostras de sedimentos de fundo coletadas a montante (P1) e a jusante (P2 e P3) da foz do Ribeirão Ferro-Carvão, ou seja, em áreas atingidas e não atingidas pelo rejeito de mineração oriundo da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão, mantidos a -18°C até o momento das análises. Os procedimentos foram distintos para cada biomolécula, e estão listados a seguir:

4.5.1. Quantificação de Proteínas:

A quantificação de proteínas nos sedimentos foram realizadas segundo o método de Lowry *et al.* (1951), seguindo as modificações introduzidas por Hartree (1972). Foram pesados 0,5 g de sedimento úmido, em triplicata. Colocou-se 1 mL de água destilada e 1 mL de solução de NaOH a 0,2M nos tubos de ensaio com sedimento, que foram em seguida agitados em vórtex. Após 30 minutos, colocou-se 2,2 mL de água e 0,2 mL de uma solução contendo sulfato de cobre a 1% e 0,5mL de tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a 2%. Adicionou-se 0,2 mL dessa solução a cada tubo, que foi novamente agitado em vórtex. Após 15 minutos, adicionou-se 0,1 mL de solução contendo reagente de Folin-Ciocalteu (FCR) e água na proporção 1:2 de FCR: H_2O , e os tubos foram novamente agitados em vórtex. Após 30 minutos, os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos, em centrífuga CELM LS-3, e a absorvância do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro Spectronic 20D (Milton Roy) a 650 nm. O

branco foi preparado utilizando água destilada no lugar da amostra. Como padrão para construção de curva padrão de referência, foi utilizada albumina bovina, fração V (Sigma).

4.5.2. Quantificação de Carboidratos:

Para quantificação de carboidratos, foi utilizado o método de Dubois *et al.* (1956) e Gerchakov e Hatcher (1972). Foram pesados 0,5 g de sedimento úmido, em triplicata. Adicionou-se 1 mL de água destilada, 1mL de fenol a 5%, a agitou-se os tubos em vórtex. Após 10 minutos, adicionou-se 5mL de ácido sulfúrico concentrado, e agitou-se os tubos em vórtex. A reação do fenol com ácido sulfúrico produz calor e foi necessário esperar esfriar para prosseguir. Então centrifugou-se os tubos a 3000 rpm por 5 minutos em centrífuga LS-3 (CELM), e a absorbância do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro (Spectronic 20D, Milton Roy). a 485 nm. O branco foi preparado substituindo-se a amostra por água destilada. Como padrão para construção de curva de referência, utilizou-se a glicose.

4.5.3. Quantificação de Lipídeos:

A extração e quantificação de lipídeos foi realizada conforme Marsh e Weinstein (1966). Foram pesados 0,5 g de sedimento úmido, em triplicata. Adicionou-se 1 mL de água destilada, 2,5 mL de metanol, e 1,25 mL de CHCl₃. Após agitação em vórtex, os tubos foram resfriados por 10 minutos em um freezer a 4°C. Colocou-se mais 1,25 mL de água destilada em cada tubo, e os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos em centrífuga LS-3 (CELM) para separar fase sólida (sedimento), fase orgânica, e fase aquosa. A fase orgânica foi transferida utilizando uma pipeta Pasteur para outro tubo. Em seguida, os tubos foram postos para secar em um banho de areia a 80-100°C. Após a secagem, adicionou-se 2 mL de H₂SO₄, lentamente, e os tubos foram levados ao banho de areia a 180°C por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram resfriados em banho de água em temperatura ambiente, e depois banho de gelo por 5 minutos.

Adicionou-se 3 mL de água destilada, e agitou-se os tubos em vórtex. Após centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos em centrífuga LS-3 (CELM), a absorbância do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro Spectronic 20D (Milton Roy) a 375 nm. O branco foi preparado substituindo-se a amostra por água destilada. Para construção de curva-padrão, foi utilizada tripalmitina (Sigma).

4.5.4. Cálculo do carbono biopolimérico total:

Todos os cálculos foram feitos utilizando o aplicativo Microsoft Excell. Para verificação da similaridade entre as diferentes amostras, foi feito o teste *t* de Student, no mesmo aplicativo.

A quantidade de carbono biopolimérico total disponível no sedimento foi calculada a partir de fatores de conversão, como proposto por Fabiano e Danovaro (1994), de 0,49 para proteínas, 0,4 para carboidratos, e 0,75 para lipídeos.

5. Resultados

5.1 Experimentos com microcosmos

Nos microcosmos contendo microrganismos vivos e adicionados de substrato orgânico, o crescimento microbiano pôde ser constatado pela produção de gás. Nos controles vivos e autoclavados, não foi observada produção de gás, nem nenhuma outra mudança indicando crescimento microbiano. O que não quer dizer que nos controles vivos não haviam microrganismos vivos – significa apenas que não cresceram o suficiente para elicitarem diferenças visíveis nos microcosmos.

5.1.1 Experimento de tempo curto

Nos microcosmos contendo substrato orgânico e microrganismos vivos construídos a partir de água e sedimentos dos três locais, pôde-se observar outras mudanças indicando crescimento microbiano além da produção de gás, tais como turbidez da fase líquida (com glicose e extrato de leveduras), presença de biofilmes na superfície da fase líquida ou da fase sólida (com glicose e extrato de leveduras) e mudança de coloração das fases líquida e sólida (extrato de leveduras).

Nos microcosmos de tempo curto (até 28 dias), foi constatado aumento substancial das concentrações de Fe(II) solúvel na fase líquida dos microcosmos contendo os substratos orgânicos glicose e extrato de leveduras em relação aos controles, tanto vivo quanto autoclavado (figura 4). Na maioria das vezes, as concentrações de Fe(II) aumentaram com o tempo até os 28 dias, quando o experimento terminou e, nos casos em que houve diminuição de uma semana para a outra, a diferença não foi significativa. Em todos os casos, as maiores concentrações de substrato orgânico levaram a concentrações de Fe(II) mais altas em comparação as concentrações menores de cada substrato orgânico. A comparação entre os diferentes substratos fermentáveis mostra que as concentrações de Fe(II) nos microcosmos adicionados de glicose (Figura 4a-c) foram em geral maiores que as encontradas nos microcosmos contendo extrato de leveduras (Figura 4 d-f).

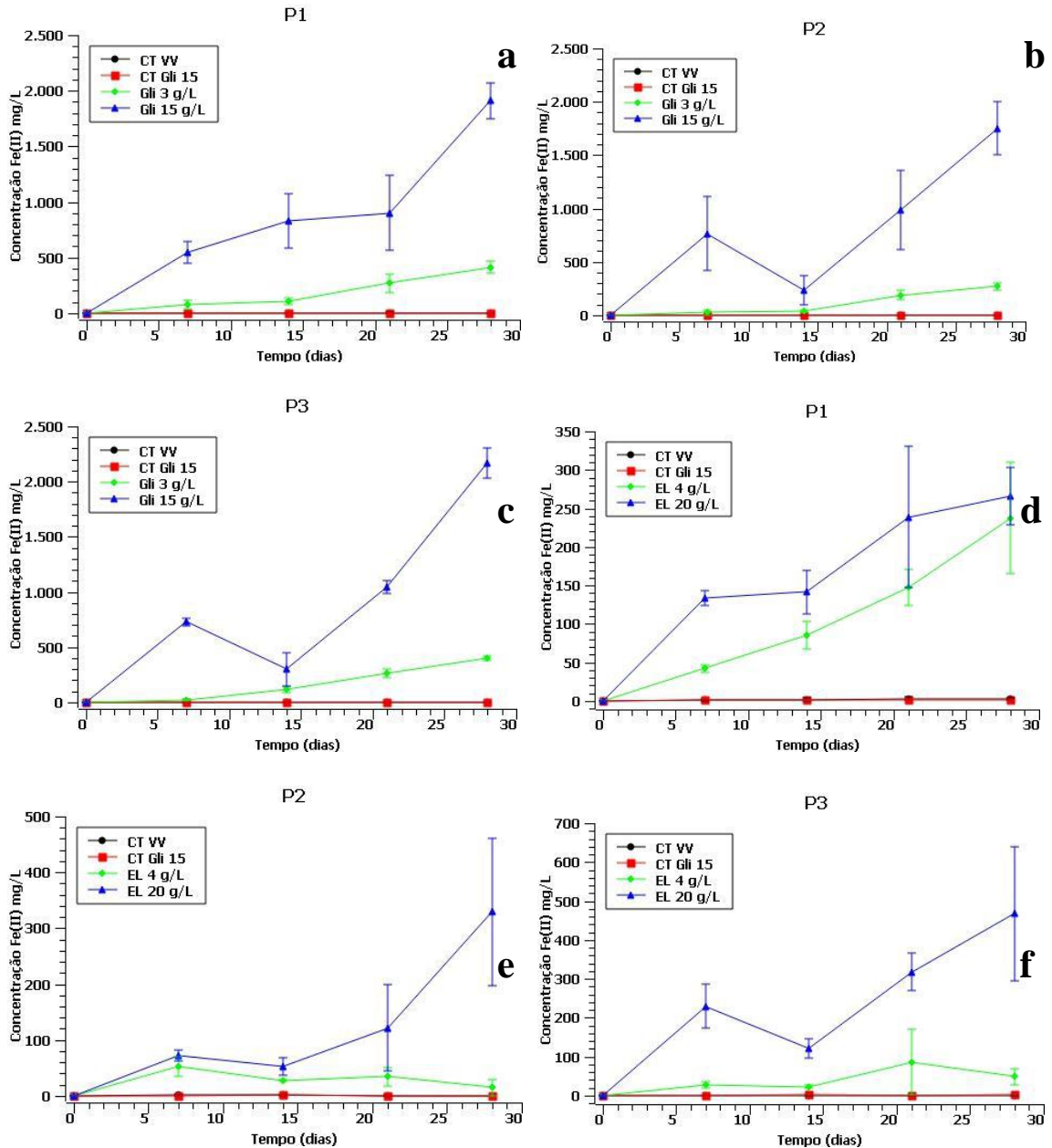


Figura 4: Concentrações de Fe(II) solúvel na fase líquida dos microcosmos dos experimentos de tempo curto contendo substratos fermentáveis. Os pontos representam as médias, e as barras o desvio padrão. (a-c) Experimentos utilizando glicose. (c-f) Experimentos utilizando extrato de leveduras. As concentrações de substratos orgânicos maiores estão em azul e as menores em verde, e os controles autoclavados e vivos estão em vermelho e preto, respectivamente.

Outro ponto importante é que, apesar de o ponto P1 não ter sido atingido pelo rejeito de minério de ferro da barragem B1, os seus respectivos microcosmos apresentaram concentrações de Fe(II) solúvel na fase líquida similares às encontradas nos microcosmos construídos a partir de material dos outros dois pontos de coleta, estes já atingidos pelo rejeito de mineração (Figura 4).

Nos microcosmos com matéria orgânica não fermentável (acetato de sódio), não houve diferença significativa entre os microcosmos controles e experimentais, e os valores de concentração de Fe(II) solúvel na fase líquida foram muito menores que os dos microcosmos contendo substratos fermentáveis (Figura 5).

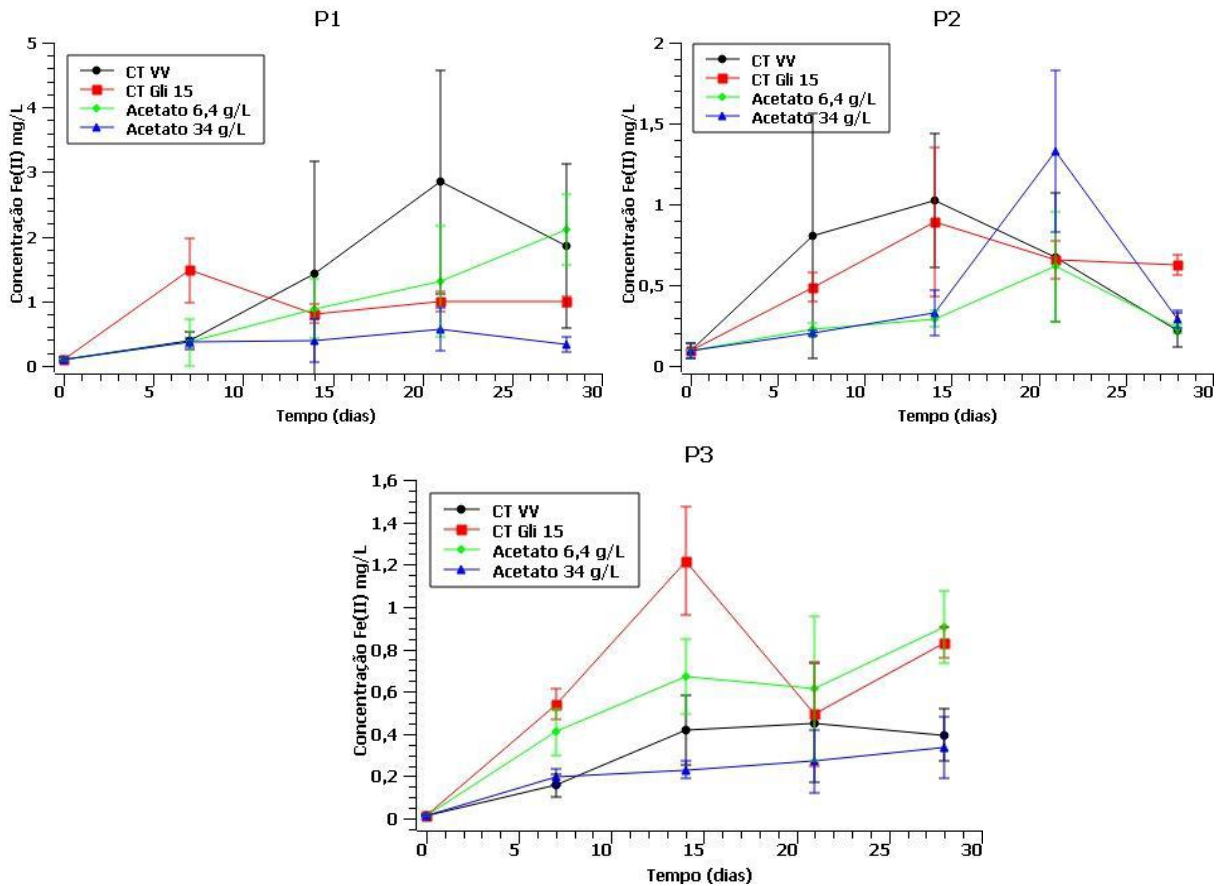


Figura 5: Concentrações de Fe(II) nos microcosmos contendo o substrato orgânico não fermentável acetato de sódio. Os pontos representam as médias, e as barras o desvio padrão. Em verde, a menor concentração de acetato de sódio (6,8 g/L) e, em azul, a maior (34 g/L). Em vermelho e preto, os controles autoclavados e vivos, respectivamente.

O pH da fase líquida dos microcosmos foi medido no dia 0 e também após 21 dias de incubação. Observamos que no dia 0, ou seja, quando os microcosmos foram montados, o pH estava em torno de 7,0 na água do rio misturada a todos os substratos orgânicos. Após 21 dias de incubação, o pH variou de acordo com o substrato orgânico adicionado e com a concentração do mesmo, mas não variou conforme o local de coleta do material com o qual foram construídos (Tabela 3).

Tabela 3: pH da fase líquida dos microcosmos após 21 dias de incubação.

Substância	Concentração (g/L)	Local	pH	N
nenhuma (controle vivo)		P1	7	6
		P2	7	6
		P3	7	6
glicose (controle autoclavado)	15	P1	6-7	6
		P2	6-7	6
		P3	6-7	6
acetato de sódio	6,8	P1	7-8	6
		P2	7-8	6
		P3	7-8	6
	34	P1	7-8	6
		P2	7-8	6
		P3	7-8	6
extrato de leveduras	4	P1	7	6
		P2	7	6
		P3	7	6
	20	P1	6	6
		P2	6	6
		P3	6	6
glicose	3	P1	5	6
		P2	5	6
		P3	5	6
	15	P1	5	6
		P2	5	6
		P3	5	6

5.1.2 Experimento de tempo longo

Os experimentos de tempo longo foram realizados em frascos de penicilina de 100 mL, substituindo-se periodicamente parte da fase líquida por uma nova amostra de água do Rio Paraopeba do ponto correspondente contendo 1,5 g de glicose. Os resultados de cada

microcosmo do experimento de tempo longo estão mostrados na figura 6. Até cerca de 50 dias, as concentrações de Fe(II) se mantiveram similares nos 9 microcosmos construídos com água e sedimentos dos 3 pontos de coleta. Porém, acima de 80 dias, a diferença entre microcosmos que representam os pontos atingidos pelo rejeito da barragem B1 (P2 e P3) e o ponto não atingido (P1) fica muito evidente: enquanto que no ponto P1 é possível observar que a redução do ferro começa a se esgotar e a concentração de Fe(II) diminui, mantendo-se abaixo de 1000 mg/L após 200 dias, nos pontos P2 e P3 ocorre um drástico aumento da concentração de ferro na água a partir dos 90 dias, com valores acima de 10.000 mg/L, chegando a mais de 14.000 mg/L.

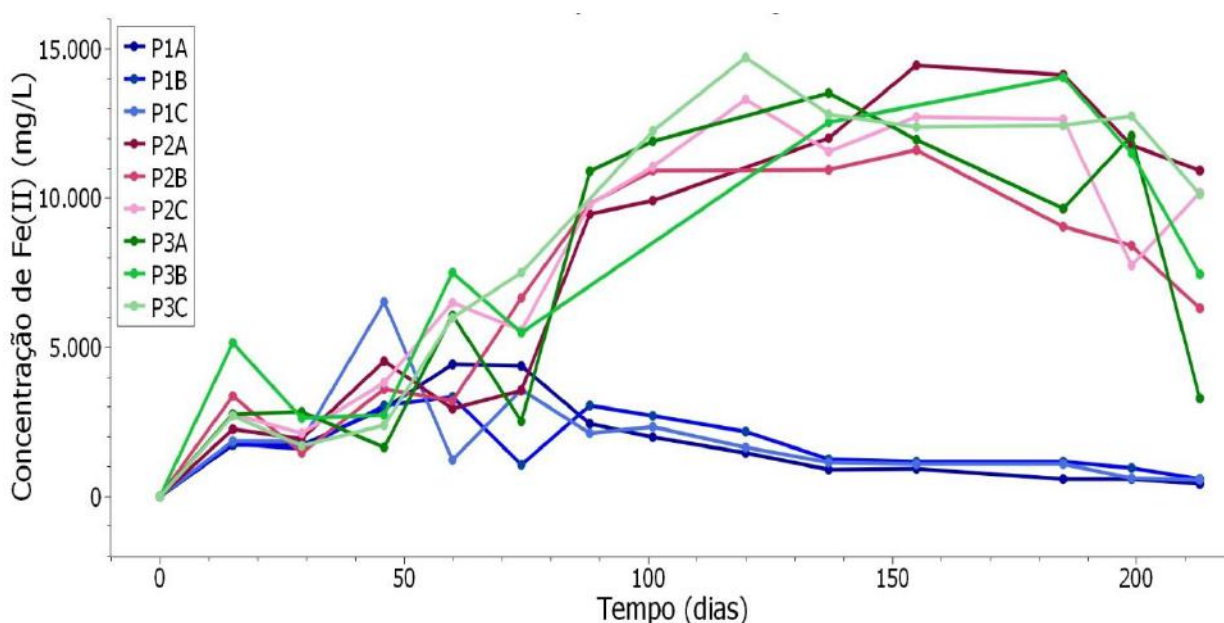


Figura 6: Concentrações de Fe(II) na fase líquida de microcosmos dos 3 pontos de coleta no Rio Paraopeba, incubados por 213 dias. As 3 linhas azuis representam a triplicata do experimento para o ponto P1, as 3 linhas rosas representam a triplicata do ponto P2, e as 3 linhas verdes representam a triplicata do ponto P3. Cada linha representa um único microcosmo, conforme acompanhado ao longo do tempo.

5.2 Análise dos Biopolímeros:

A análise das concentrações de matéria orgânica biopolimérica nos sedimentos dos três pontos do Rio Paraopeba mostraram que as concentrações de proteínas, carboidratos e lipídeos aumentaram ao longo do rio ($P1 < P2 < P3$) (Figura 7a-c). A maior diferença entre os três pontos de coleta foi observada para lipídeos em P3. As concentrações de material biopolimérico foram convertidas matematicamente a concentração de carbono biopolimérico, cujo gráfico mostra o

mesmo aumento gradual de quantidades obtidas em cada um dos biopolímeros quando analisados separadamente, de P1 até P3 (Figura 7d).

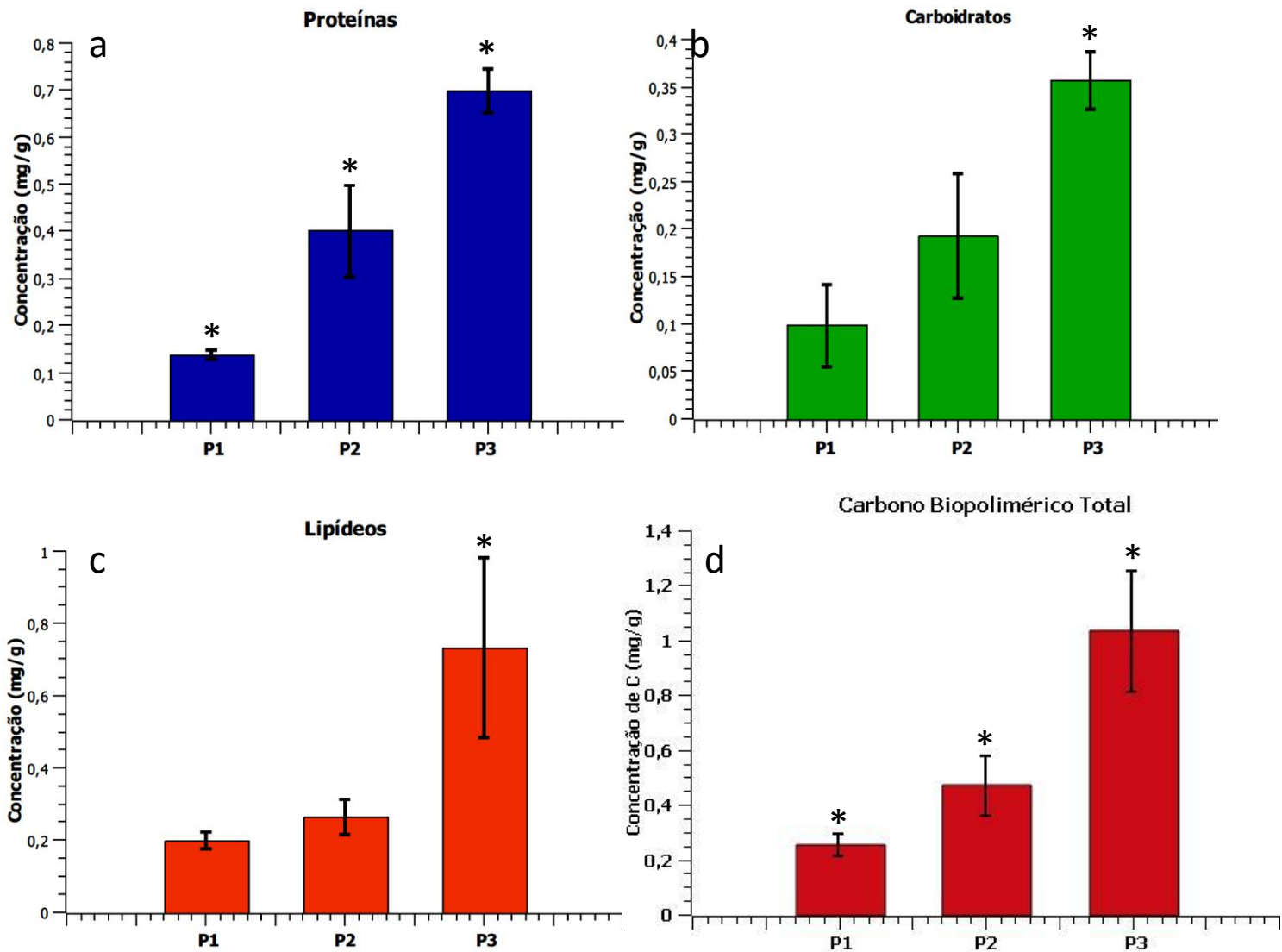


Figura 7: Concentrações de biopolímeros nos sedimentos dos três pontos do Rio Paraopeba. (a) Concentração de proteínas (azul). (b) Concentração de carboidratos (verde). (c) Concentração de lipídeos (laranja). (d) Carbono biopolimérico total. As barras representam o desvio padrão. Asteriscos indicam diferenças significativas (Teste t de Student, $P < 0,05$).

6. Discussão

Os ambientes dos microcosmos tentam, de forma controlada, em tubos de ensaio, replicar o ambiente encontrado na natureza, mas, ao mesmo tempo, permitem que sejam feitos experimentos de acordo com os objetivos do estudo. No caso observado nestes experimentos, foram utilizadas três substratos orgânicos, sendo dois fermentáveis, e um não fermentável, com o intuito de induzir a ação dos microrganismos heterotróficos anaeróbios presentes nos sedimentos. Foram utilizadas duas concentrações de cada substrato, e as concentrações de Fe(II) na fase líquida foram analisadas ao longo do tempo.

A glicose é conhecida por ser um monossacarídeo de fácil assimilação pelos microrganismos, e é considerada uma fonte de carbono e energia simples, com composição química conhecida (Madigan *et al.*, 2016). Já o extrato de leveduras é considerado uma fonte de carbono complexa, que contém diferentes tipos de biomoléculas além de carboidratos, como proteínas e lipídeos. Em microcosmos que continham essas fontes de matéria orgânica passíveis de serem utilizadas por uma ampla gama de microrganismos anaeróbios, incluindo fermentadores, foi possível observar um aumento expressivo da concentração de Fe(II) disponível em relação aos controles, para os 3 pontos de coleta de amostras, em um tempo de incubação de até 28 dias (Figura 4). Por outro lado, o acetato é um composto químico simples, não fermentável, o que limita a oxidação pelos microrganismos anaeróbios. De forma mais particular, o acetato é um doador de elétrons utilizado por muitas bactérias anaeróbias que fazem a redução dissimilatória de Fe(III) a Fe(II), porém os microrganismos fermentadores, que podem reduzir o Fe(III) a Fe(II) como estratégia para melhorar o balanço redox, não são capazes de utilizar o acetato para conservação de energia sob anoxia (Madigan *et al.*, 2016). Nos mesmos 28 dias de incubação aos quais foram submetidos os microcosmos contendo glicose, extrato de leveduras e todos os seus respectivos controles, os experimentos que continham acetato de sódio, seja na maior ou menor concentração, não apresentaram quantidades de Fe(II) solúvel significativamente distintas das encontradas nos controles vivos e autoclavados (Figura 5), o que poderia indicar a predominância da ação de microrganismos fermentadores na redução de Fe(III) a Fe(II) em detrimento daqueles que utilizam a redução dissimilatória de ferro.

Dentre os substratos orgânicos utilizados, a glicose foi a mais efetiva para gerar aumento das concentrações de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos, seguida pelo extrato de leveduras. Quando comparados os valores de pH encontrados nos microcosmos para os três tipos de matéria orgânica (Tabela 3), em ordem decrescente temos acetato de sódio > extrato de leveduras > glicose, enquanto que a ordem crescente das concentrações máximas de Fe(II) atingidas na fase líquida foi a mesma: acetato de sódio < extrato de leveduras < glicose. É

possível que as diferenças de pH da fase líquida sejam responsáveis pelas diferenças observadas nas concentrações de Fe(II) na fase líquida, uma vez que em pH mais alto o Fe(II) tende a se precipitar na forma de magnetita e outros minerais (Bell *et al.*, 1987; Keim *et al.*, 2021). Desta forma, o que muda com o pH é o destino do Fe(II): em pH ácido (≤ 5), ele fica solúvel, e em pHs mais alcalinos (6-7 para extrato de leveduras e 7-8 para acetato de sódio), a proporção de Fe(II) nos minerais poderia aumentar progressivamente com o pH e, desta forma, não seria quantificado, pois não estaria na fase líquida dos microcosmos. Portanto, a ausência de Fe(II) na fase líquida não significa que não houve redução dissimilatória de ferro nos microcosmos contendo acetato, nem que a redução de Fe(III) a Fe(II) nos microcosmos contendo extrato de leveduras foi menor que nos microcosmos contendo glicose. Em geral, nos microcosmos contendo glicose e extrato de leveduras, as maiores concentrações de Fe(II) são observadas nos microcosmos contendo as maiores concentrações de cada substrato orgânico (Figura 4).

Os experimentos de tempo longo foram construídos apenas com glicose a 15 g/L, que são o substrato e a concentração utilizados nos experimentos de tempo curto que gerou a maior mobilização de ferro nos experimentos de tempo curto (Figura 4). Quando os resultados dos dois experimentos são comparados, observamos que as concentrações de Fe(II) encontradas na fase líquida dos microcosmos foram semelhantes no período correspondente. Os resultados destes dois experimentos (figuras 4 e 6) podem ser interpretadas em duas questões principais: a primeira é que há, efetivamente, um aumento das concentrações de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos ao longo do tempo, e esse aumento é mais exacerbado nos pontos atingidos pelo rejeito de minério (Figura 6), e a segunda é que microrganismos heterotróficos, sejam eles fermentadores ou capazes de realizar a redução dissimilatória do ferro, são os principais catalisadores das reações de redução de Fe(III) dos minerais contendo óxidos de ferro.

Se no experimento de tempo curto, 28 dias de incubação dos microcosmos fizeram com que os três pontos de coleta tivessem concentrações de Fe(II) semelhantes, quando se ultrapassam os 50 dias de incubação, a presença do rejeito de minério de ferro contendo grande quantidade de óxidos de ferro no leito do rio torna-se significativa (Figura 6). Uma explicação possível para as altas concentrações de Fe(II) solúvel encontradas em P1 seria a localização geográfica do Paraopeba, no Quadrilátero Ferrífero, uma região geológica do Brasil naturalmente rica em minerais contendo Fe(III), onde estão instaladas várias plantas de mineração de ferro (Calazans *et al.*, 2018; Lopes *et al.*, 2019). Porém, em P2 e P3, o leito do Rio Paraopeba agora contém um novo sedimento de fundo, que mistura o que já havia no rio com grandes quantidades de rejeito da Barragem I (Teramoto *et al.*, 2021). O particulado fino do rejeito foi carregado por, pelo menos, 40 km do Rio Paraopeba a jusante da foz do Ribeirão Ferro-Carvão (Silva Rotta *et al.*, 2020). Nos pontos atingidos pelo rejeito da Barragem I (P2 e P3), o

que se observa é que a grande quantidade de óxidos de Fe(III) depositados no leito do rio contribuíram para que a quantidade de Fe(III) passível de ser reduzida naquele meio ficasse muito maior do que anteriormente ao desastre (Figura 6). Por esta razão, nem mesmo com mais de 200 dias de incubação é possível precisar quando ocorreria um esgotamento do Fe(III) disponível - as concentrações de Fe(II) dissolvido permaneceram muito altas e por um longo período de tempo.

Neste experimento, as concentrações de Fe(II) atingiram concentrações acima de 14 g/L em vários microcosmos de P2 e P3 a partir dos 120 dias, valores muito altos relativamente aos que tem sido publicados na literatura da redução dissimilatória de ferro e redução de ferro acoplada a fermentação. Por exemplo, em culturas puras de *Geobacter metallireducens*, as concentrações de Fe(II) total, nas fases líquida e sólida, chegam a ~3,5 g/L, quando é utilizado óxido de ferro amorfo como fonte de Fe(III) (Lovley e Phillips, 1988); em culturas mistas utilizando citrato férrico como fonte de Fe(III), as concentrações de Fe(II) solúvel chegam a ~2,8 g/L, e as concentrações de Fe(II) total a ~3,2 g/L (García-Balboa *et al.*, 2009). Em culturas puras de *Shewanella alga* Br-Y contendo como fonte de Fe(III) solo e sub-solo ricos em hematita e goetita, a concentração de Fe(II) chega a ~850 mg/L (Roden e Zachara, 1996). Consórcios microbianos obtidos de solos e margem de rios reduzem o Fe(III) de minerais sintéticos e naturais a Fe(II), sendo mais eficientes na redução dos óxidos de ferro sintéticos, e atingindo 45 mg/L de Fe(II) após 15 dias de cultura (Zhang *et al.*, 2020). Essa diferença é ainda mais gritante considerando que vários estudos mostraram que a maioria das bactérias prefere reduzir formas solúveis de ferro (como o citrato férrico), ou minerais amorfos ou pouco cristalinos em detrimento de minerais mais cristalinos como a goetita e a hematita (Roden e Zachara, 1996; Zhang *et al.*, 2020), que são os principais óxidos de ferro no rejeito da Barragem I.

Em sedimentos de fundo de rios lagos e áreas costeiras, a presença de material orgânico biopolimérico, ou seja, proteínas, carboidratos e lipídeos, em geral compõem a maior parte da matéria orgânica biodegradável (Fabiano e Danovaro, 1994). As proteínas estão relacionadas à biomassa microbiana (Fabiano e Danovaro, 1994; Danovaro *et al.*, 1999) e ao estado trófico (Dell'Anno *et al.*, 2002; Venturini *et al.*, 2012). As concentrações de carboidratos refletem a produção primária do próprio ambiente (Venturini *et al.*, 2012) e o aporte de matéria orgânica alóctone de origem vegetal. Os lipídeos estão relacionados a biomassa microbiana (Danovaro *et al.*, 1999), detritos advindos do plâncton, e podem ainda ser derivados de materiais de origem antropogênica como esgotos não tratados ou petróleo e derivados (Venturini *et al.*, 2012). A relação proteínas/carboidratos está relacionada ao nível de degradação da matéria orgânica, já que as proteínas seriam mais resistentes a degradação (Venturini *et al.*, 2012).

No Rio Paraopeba, as concentrações de material biopolimérico observadas nos sedimentos são baixas relativamente a outros ambientes (Dell'Anno *et al.*, 2002). As concentrações de proteínas e carboidratos caracterizariam os trechos analisados do Rio Paraopeba como meso- ou oligotróficos, segundo o critério proposto por Dell'Anno e colaboradores (2002). É importante notar que em P1 os nossos dados refletem a coluna d'água, porém em P2 e P3, as concentrações de biopolímeros podem refletir também o aporte de grande quantidade de materiais inorgânicos por meio do rejeito da Barragem I, ou seja, a matéria orgânica dos sedimentos foi "diluída" num volume maior de materiais inorgânicos, e poderia ter sido maior anteriormente ao desastre. Desta forma, a caracterização de P2 e P3 como ambientes meso- ou oligotróficos não seria confiável com base em quantificação de biopolímeros.

As análises das concentrações de biopolímeros nos sedimentos do Rio Paraopeba indicaram que há um aumento dos três tipos de biopolímeros ao longo do Rio Paraopeba no trecho analisado, sendo $P1 < P2 < P3$ (Figura 7). Apesar de haver uma tendência de aumento para os três biopolímeros ao longo do trecho estudado, essa diferença foi significativa ($P < 0,05$, teste *t* de Student) para as concentrações de proteínas dos três pontos de coleta, e somente para o ponto P3 para carboidratos e lipídeos. Considerando-se o carbono biopolimérico total, houve diferença significativa entre os três pontos de coleta ($P < 0.01$) (Figura 7d). A explicação mais óbvia para essa diferença nas concentrações dos três biopolímeros nos sedimentos de P3 em relação a P2 e P1 é o lançamento de esgotos não tratados no Rio Paraopeba na área urbana de Brumadinho. Mais especificamente, concentrações de lipídeos maiores ou iguais as de proteínas e carboidratos nos sedimentos de rios, lagos e áreas costeiras estão associados ao lançamento de esgotos na água, e o ponto P3, que mostrou as maiores concentrações de lipídeos, é o único dos três pontos de coleta que se localiza a jusante da cidade de Brumadinho (Figura 1).

Além dos fatores geoquímicos naturais e do próprio impacto do rejeito de mineração em si, é importante também destacar a importância da influência da matéria orgânica para a fermentação e a redução dissimilatória do ferro. No caso específico dos microrganismos presentes nos sedimentos do Rio Paraopeba, nossos resultados mostram explicitamente que o Fe(III) funciona como acceptor final de elétrons ou no balanço redox da fermentação. É importante salientar que, para que ambos os tipos de metabolismo ocorram, é necessário que estes microrganismos tenham acesso a uma fonte de carbono orgânico biodegradável. As concentrações de carbono biopolimérico e de cada um de seus componentes (proteínas, carboidratos e lipídeos) aumentam ligeiramente de P1 para P2, e principalmente de P2 para P3, porém os resultados de dissolução redutiva do ferro nos controles vivos não mostraram

diferenças significativas entre si (Figura 5). Outra possibilidade seria que o pouco Fe(II) produzido estivesse na fração sólida, precipitado em minerais, devido ao pH neutro.

É importante ressaltar que, em se tratando de um trabalho onde não são realizadas culturas puras de microrganismos específicos, e toda a variedade de microrganismos da água e sedimentos do Rio Paraopeba, contendo várias possibilidades de metabolismos microbianos, é inoculada nos experimentos, a redução do Fe(III) a Fe(II) pode estar associada tanto a redução dissimilatória de ferro quanto a fermentação da matéria orgânica. Com as análises realizadas neste estudo, não foi possível precisar quais microrganismos, nem quais vias bioquímicas estariam levando ao aumento da concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. Para isso, seriam necessárias análises mais aprofundadas de metabolômica ou metatranscriptômica para se elucidar metabólitos ou mRNA codificante de enzimas e vias metabólicas. Tanto as vias conhecidas de redução dissimilatória do ferro quanto as vias alternativas de utilização do Fe(III) no balanço redox da fermentação, que podem utilizar-se do ferro como acceptor de elétrons, podem ter ocorrido dentro dos microcosmos como também podem estar ocorrendo no Rio Paraopeba atualmente.

Na verdade, a principal questão da dissolução redutiva do ferro não está na ciclagem do ferro em si, nem na solubilização do Fe(II) em água. Consumir água com altas concentrações de ferro pode levar a sintomas gastrointestinais, como diarreias e cólicas, em geral não levando a condições mais graves. O principal problema relacionado à dissolução redutiva do ferro está na possibilidade de que o rejeito de minério de ferro contenha elementos-traço que são bem mais tóxicos que o ferro, mesmo em concentrações pequenas, como o Pb, Cd, As, Cr, dentre outros, conforme mostrado para outros tipos de materiais, como solos e sedimentos. Por exemplo, a adição de glicose a microcosmos anaeróbios contendo sedimentos dos rios Marne e Sena levou a dissolução redutiva de ferro, associada a dissolução de Co, Cu, Mn e Ni (Gounou *et al.*, 2010). Adição de meio de cultura contendo glicose a dois tipos de solos levou a dissolução de Fe, Zn e As pelos microrganismos nativos dos próprios solos (Styriaková *et al.*, 2016).

Se há dissolução redutiva do ferro nos sedimentos do Rio Paraopeba, elementos-traço poderiam estar sendo dissolvidos na água juntamente com o ferro, levando ao aumento das concentrações de elementos-traço. De fato, tem sido observadas altas concentrações de Fe, Al, Cd, Cu, Hg, Mn, Pb e U na água do Rio Paraopeba, atingindo valores acima daqueles preconizados pelo CONAMA (Thompson *et al.*, 2020; Vergilio *et al.*, 2020). Teramoto e colaboradores (2021) mostraram que As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn são mais concentrados no rejeito de mineração da Barragem I do que nos sedimentos antigos do Rio Paraopeba, o que poderia indicar uma maior contribuição do rejeito nas concentrações destes elementos na água do rio.

Faz-se necessário que a avaliação das concentrações de elementos-traço na água do Rio Paraopeba sejam feitos com maior frequência para acompanhar a sua dinâmica no rio. Além de ser necessário reafirmar, agora com embasamento na relação entre matéria orgânica e dissolução de minerais, que os esgotos e efluentes ricos em carbono orgânico, fósforo e/ou nitrogênio precisam passar por um processo de tratamento adequado para remoção de matéria orgânica e fósforo antes de serem lançados na água de qualquer rio, pois, além dos problemas relacionados à transmissão de doenças e eutrofização causados pelo lançamento de esgotos “*in natura*” em rios e lagos, há também o risco de mobilização de metais a partir dos minerais dos sedimentos.

7. Referências:

- ANA. 2012. Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil. Agência Nacional de Águas. Brasília, DF, 264 p. ISBN: 978-85-8210-007-3. http://biblioteca.ana.gov.br/index.asp?codigo_sophia=5955
- Atif, I., Cawood, F.T. e Mahboob, M.A. 2020. Modelling and analysis of the Brumadinho tailings disaster using advanced geospatial analytics. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy* 120, 405-414. DOI: 10.17159/2411-9717/1196/2020.
- Bell, P.E., Mills, A.L. e Hermin, J.S. 1987. Biogeochemical conditions favoring magnetite formation during anaerobic iron reduction. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 2610-2616. DOI: 10.1128/aem.53.11.2610-2616.1987.
- Bird, L.J., Bonnefoy, V. e Newman, D.K. 2011. Bioenergetic challenges of microbial iron metabolisms. *Trends in Microbiology* 19, 330-340. DOI: 10.1016/j.tim.2011.05.001.
- Brune, A., Frenzel, P. e Cypionka, H. 2000. Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiology Reviews* 24, 691-710.
- Calazans, G.M., Pinto, C.C., Costa, E.P., Perini, A.F. e Oliveira, S.C. 2018. The use of multivariate statistical methods for optimization of the surface water quality network monitoring in the Paraopeba river basin, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 190, 491. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6873-2>
- Campbell, K.M., Malasarn, D., Saltikov, C.W., Newman, D.K. e Hering, J.G. 2006. Simultaneous microbial reduction of iron(III) and arsenic(V) in suspensions of hydrous ferric oxide. *Environmental Science and Technology* 40, 5950-5955. DOI: 10.1021/es0600476.
- Carmo, F. F., Kamino, L.H.Y., Tobias Junior, R., Campos, I.C., Carmo, F.F., Silvino, G, Castro, K.J.S.X., Mauro, M.L., Rodrigues, N.U.A., Miranda, M.P.S. e Pinto, C.E.F. 2017. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspectives in Ecology and Conservation* 15, 145-151. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.002>.
- Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, 2020. CBH do Rio Paraopeba (SF3) – MINAS GERAIS. Disponível em: <https://cbhsaofrancisco.org.br/comites-de-afluentes/cbh-do-rio-paraopeba-sf3-minas-gerais/> Acesso em: 29 de junho de 2020.

- Dai, X., Li, P., Tu, J., Zhang, R., Wei, D., Li., B., Wang, Y. e Jiang, A. 2018. Evidence of arsenic mobilization mediated by an indigenous iron reducing bacterium from high arsenic groundwater aquifer in Hetao Basin of Inner Mongolia, China. *International Biodeterioration and Biodegradation* 128, 22-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.05.012>
- Danovaro, R., Marrale, D., Della Croce, N., Parodi, P. e Fabiano, M. 1999. Biochemical composition of sedimentary organic matter and bacterial distribution in the Aegean Sea: trophic state and pelagic–benthic coupling. *Journal of Sea Research* 42, 117-129.
- Defesa Civil do Estado de Minas Gerais, 2021. Boletim Informativo do dia 28 de Maio de 2021. Disponível em: <http://www.defesacivil.mg.gov.br/index.php/defesacivil/boletim-defesa-civil> Acesso em 28 de Maio de 2021.
- Dell’Anno, A., Mei, M.L., Pusceddu, A. e Danovaro, R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: A new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin* 44, 611-622. DOI: 10.1016/S0025-326X(01)00302-2.
- Dobbin, P.S., Carter, J.P., San Juan, C.G.S., von Hobe, M., Powell, A.K. e Richardson, D.J. 1999. Dissimilatory Fe(III) reduction by *Clostridium beijerinckii* isolated from freshwater sediment using Fe(III) maltol enrichment. *FEMS Microbiology Letters* 176, 131-138. DOI: 10.1016/S0378-1097(99)00229-3.
- Duarte, H. 2019. Ferro – um elemento químico estratégico que permeia história, economia e sociedade. *Química Nova* 42, 1146–1153. DOI: 10.21577/0100-4042.20170443.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. e Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-356.
- Fabiano, M. e Danovaro, R. 1994. Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia* 277, 71-84. DOI: 10.1007/BF00016755.
- Fredrickson, J.K., Zachara, J.M., Kennedy, D.W., Dong, H., Onstott, T.C., Hinman, N.W. e Li, S.M. 1998. Biogenic iron mineralization accompanying the dissimilatory reduction of hydrous ferric oxide by a groundwater bacterium. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62, 3239-3257.
- García-Balboa, C., Cautivo, D., Blásquez, M.L., González, F., Muñoz, J.A. e Ballester, A. 2009. The influence of dissimilatory Fe(III) reducers on iron ore dissolution. *Advanced Materials Research* 71-73, 501-504.
- Gerchakov, S.M. e Hatcher, P.G. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment. *Limnology and Oceanography* 17, 938-943.
- Gounou, C., Bousserhine, N., Varrault, G. e Mouchel, J-M. 2010. Influence of the iron-reducing bacteria on the release of heavy metals in anaerobic river sediment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 212, 123-139. DOI: 10.1007/s11270-010-0327-y.
- Hartree, E.F. 1972. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry* 48, 422-427.
- IGAM, 2020. Instituto Mineiro de Gestão das Águas. Avaliação da qualidade das águas e sedimentos do Rio Paraopeba: acompanhamento da qualidade das águas do Rio Paraopeba após 1 ano do rompimento da barragem da Mina Córrego Feijão da Mineradora Vale/SA – Brumadinho/MG, Belo Horizonte: Igam, 2020. 66 p.; il. Disponível em: <http://www.igam.mg.gov.br/banco-de-noticias/2328-igam-publica-caderno-sobre-monitoramento-da-qualidade-da-agua-no-paraopeba> Acesso em: 03 de junho de 2021.
- Jiang, Y., Xi, B., Li, R., Li., M., Xu, Z., Yang, Y. e Gao, S. 2019. Advances in Fe(III) bioreduction and its application prospect for groundwater remediation: A review. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 13, 89. DOI: 10.1007/s11783-019-1173-9.
- Keim, C.N., Serna, J.D.P., Acosta-Avalos, D., Neumann, R., Silva, A.S., Jurelevicius, D.A., Pereira, R.S., de Souza, P.M., Seldin, L. e Farina, M. 2021 Dissimilatory iron-reducing microorganisms are present and active in the sediments of the Doce River and tributaries impacted by iron mine tailings from the collapsed Fundão Dam (Mariana, MG, Brazil). *Minerals* 11, 244. <https://doi.org/10.3390/min11030244>
- Konhauser K.O., Kappler, A. e Roden, E.E. 2011. Iron in microbial metabolisms. *Elements* 7, 89-93. DOI: 10.2113/gselements.7.2.89.
- Lehours, A.C., Rabiet, M., Morel-Desrosiers, N., Morel, J-P., Jouve, L., Arbeille, B., Mailhot, G. e Fonty, G. 2010. Ferric iron reduction by fermentative strain BS2 isolated from an iron-rich anoxic environment (Lake Pavin, France)", *Geomicrobiology Journal* 27, 714-722. DOI: 10.1080/01490451003597663.

- Lopes, F.A., Lana, C.E. e Castro, P.T.A. 2019. Sedimentologia e geocronologia aplicadas à investigação da influência da mineração de ferro no assoreamento de afluentes do rio Paraopeba, oeste do Quadrilátero Ferrífero, MG, Brasil. *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ* 42, 149-158.
- Lovley, D.R. 1987. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron: A review. *Geomicrobiological Journal* 5, 375-399. DOI: 0149-0451/87/03375-0053.00/0 ou DOI: 10.1080/01490458709385975.
- Lovley, D.R. 1991. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiological Reviews* 55, 259-287.
- Lovley, D.R. e Holmes, D.E. 2020. Protein nanowires: the electrification of the microbial world and maybe our own. *Journal of Bacteriology* 202: e00331-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00331-20>
- Lovley, D.R. e Phillips, E.J.P. 1986. Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac River. *Applied and Environmental Microbiology* 52, 751-757.
- Lovley, D.R. e Phillips, E.J.P. 1988. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1472-1480. DOI: 10.1128/aem.54.6.1472-1480.1988.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. e Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.
- List, C., Hosseini, Z., Meibom, K.L., Hatzimanikatis, V., e Bernier-Latmani, R. 2019. Impact of iron reduction on the metabolism of *Clostridium acetobutylicum*", *Environmental Microbiology* 21, 3548–3563. DOI: 10.1111/1462-2920.14640.
- Luo, L., Meng, H., e Gu, J. D. 2017. Microbial extracellular enzymes in biogeochemical cycling of ecosystems. *Journal of Environmental Management* 197, 539-549. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.04.023.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. e Clark, D.P. 2016. *Microbiologia de Brock*. 14. ed. (Porto Alegre: Artmed), 1160 p.
- Mahalhal, A., Burkitt, M.D., Duckworth, C.A., Hold, G.L., Campbell, B.J., Pritchard, D.M. e Probert, C.S. 2021. Long-term iron deficiency and dietary iron excess exacerbate acute dextran sodium sulphate-induced colitis and are associated with significant dysbiosis. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 3646. DOI: 10.3390/ijms22073646.
- Marsh, B.J. e Weinstein, D.B. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipid Research* 7, 574-576.
- Melton, E.D., Swanner, E.D., Behrens, S., Schmidt, C. e Kappler, A. 2014. The interplay of microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle. *Nature Reviews Microbiology* 12, 797-808, doi:10.1038/nrmicro3347.
- Nealson, K.H. 1994. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology, and regulation. *Annual Review of Microbiology* 48, 311-343. DOI: 10.1146/annurev.micro.48.1.311.
- Noubactep, C. 2013. Relevant reducing agents in remediation Fe⁰/H₂O systems", *Clean Soil, Air, Water* 41, 493-502. DOI: 10.1002/clen.201200406.
- Pourovskii, L.V. 2019. Electronic correlations in dense iron: From moderate pressure to Earth's core conditions. *Journal of Physics - Condensed Matter* 37, 373001. DOI: 10.1088/1361-648X/ab274f
- Powers, J. S., Marín-Spiotta, E. "Ecosystem Processes and Biogeochemical Cycles in Secondary Tropical Forest Succession", **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 48, n. 1, p. 497–519, 2017. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-110316-022944. .
- Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T. e Lovley, D.R. 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature* 435, 1098-1101. DOI: 10.1038/nature03661
- Rickard, D. e Luther, G.W. 2007. Chemistry of iron sulfides, *Chemical Reviews* 107, 514-562.
- Roden, E.E. e Zachara, J.M. 1996. Microbial reduction of crystalline iron(III) oxides: Influence of oxide surface area and potential for cell growth. *Environmental Science and Technology* 30, 1618-1628.
- Segura, F.R., Nunes, E.A., Paniz, F.P., Paulelli, A.C.C., Rodrigues, G.B., Braga, G.U.L., Pedreira Filho, W.R., Barbosa Jr., F., Cerchiaro, G., Silva, F.F. e Batista, B.L. 2016. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). *Environmental Pollution* 218, 813-825. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.08.005.
- Shubham, K., Anukiruthika, T., Dutta, S., Kashyap, A.V., Moses, J.A. e Anandharamakrishnan, C. 2020. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches, *Trends in Food Science and Technology* 99, 58-75. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.02.021

- Silva, A.S. 2019. Influência de microrganismos e matéria orgânica na dissolução reductiva de ferro e manganês nos rios Doce e Gualaxo do Norte. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Rio de Janeiro, 53 f.
- Silva Rotta, L.H., Alcântara, E., Park, E., Negri, R.G., Lin, Y.N., Bernardo, N., Mendes, T.S.G. e Souza Filho, C.R. 2020. The 2019 Brumadinho tailings dam collapse: Possible cause and impacts of the worst human and environmental disaster in Brazil. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation* 90, 102119. DOI: 10.1016/j.jag.2020.102119
- Slesak, I., Slesak, H. e Kruk, J. 2012. Oxygen and hydrogen peroxide in the early evolution of life on earth: in silico comparative analysis of biochemical pathways. *Astrobiology* 12, 775-784. DOI: 10.1089/ast.2011.0704.
- Styriaková, I., Styriak, I., Balestrazzi, A., Calvio, C., Faè, M. e Styriaková, D. 2016. Metal leaching and reductive dissolution of iron from contaminated soil and sediment samples by indigenous bacteria and *Bacillus* Isolates. *Soil and Sediment Contamination* 25, 519-535. <http://dx.doi.org/10.1080/15320383.2016.1170102>
- Taylor, K.G. e Konhauser, K.O. 2011. In earth surface systems: A major player in chemical and biological processes. *Elements* 7, 83–88. DOI: 10.2113/gselements.7.2.83.
- Teramoto, E.H., Gemeiner, H., Zanatta, M.B.T., Menegário, A.A. e Chang, H.K. 2021. Metal speciation of the Paraopeba river after the Brumadinho dam failure. *Science of the Total Environment* 757, 143917. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143917
- Thompson, F., Oliveira, B.C., Cordeiro, M.C., Mais, B.P., Rangel, T.P., Paz, P., Freitas, T., Lopes, G., Silva, B.S., Cabral, A.S., Soares, M., Lacerda, D., Vergilio, C.S., Lopes-Ferreira, M., Lima, C., Thompson, C. e Rezende, C.E. 2020. Severe impacts of the Brumadinho dam failure (Minas Gerais, Brazil) on the water quality of the Paraopeba River. *Science of the Total Environment* 705, 135914. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135914.
- Tikhonova, T.V. e Popov, V.O. 2014. Structural and functional studies of multiheme cytochromes *c* involved in extracellular electron transport in bacterial dissimilatory metal reduction. *Biochemistry (Moscow)* 79, 1584-1601. DOI: 10.1134/S0006297914130094.
- Tosca, N.J., Jiang, C.Z., Rasmussen, B. e Muhling, J. 2019. Products of the iron cycle on the early Earth. *Free Radical Biology and Medicine* 140, 138-153. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.005.
- VALE S.A., 2019. Vale do Rio Doce S.A.. Esclarecimentos Sobre a Barragem I da Mina Córrego do Feijão, 2019. Disponível em: <http://www.vale.com/brasil/PT/aboutvale/news/Paginas/Esclarecimentos-sobre-a-barragem-I-da-Mina-de-Corrego-do-feijao.aspx> Acesso em: 03 de junho de 2021.
- Valenzuela-Muñoz V., Valenzuela-Miranda, D., Gonçalves, A.T., Novoa, B., Figueras, A. e Gallardo-Escárate, C. 2020. Induced-iron overdose modulate the immune response in Atlantic salmon increasing the susceptibility to *Piscirickettsia salmonis* infection. *Aquaculture* 521: 735058. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735058
- Van Swelm, R.P.L., Wetzels, J.F.M. e Swinkels, D.W. 2020. The multifaceted role of iron in renal health and disease. *Nature Reviews Nephrology* 16, 77-98. DOI: 10.1038/s41581-019-0197-5.
- Venturini, N., Pita, A.L., Brugnoli, E., García-Rodríguez, F., Burone, L., Kandratavicius, N., Hutton, M. e Muniz, P. 2012. Benthic trophic status of sediments in a metropolitan area (Rio de la Plata estuary): Linkages with natural and human pressures. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 112, 139-152. DOI: 10.1016/j.ecss.2011.08.016.
- Vergilio, C.S., Lacerda, D., Oliveira, B.C.V., Sartori, E., Campos, G.M., Pereira, A.L.S., Aguiar, D.B., Souza, T.S., Almeida, M.G., Thompson, F. e Rezende, C.E. 2020. Metal concentrations and biological effects from one of the largest mining disasters in the world (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). *Scientific Reports* 10, 5936. DOI: 10.1038/s41598-020-62700-w.
- Viollier, E., Inglett, P.W., Hunter, K., Roychoudhury, A.N. e Van Cappellen, P. 2000. The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Applied Geochemistry* 15, 785-790. DOI: 10.1016/S0883-2927(99)00097-9.
- Wang, X.N., Sun, G.X. e Zhu, Y.G. 2017. Thermodynamic energy of anaerobic microbial redox reactions couples elemental biogeochemical cycles. *Journal of Soils and Sediments* 17, 2831-2846. DOI: 10.1007/s11368-017-1767-4.
- Wang, F., Gu, Y., O'Brien, J.P., Yi, S.M., Yalcin, S.E., Srikanth, V., Shen, C., Vu., D., Ing, N.L., Hochbaum, A.I., Egelman, E.H. e Malvankar, N.S. 2019. Structure of microbial nanowires reveals stacked hemes that transport electrons over micrometers. *Cell* 177, 361-369. DOI: 10.1016/j.cell.2019.03.029.
- Weber, K.A., Achenbach, L.A. e Coates, J.D. 2006. Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction. *Nature Reviews Microbiology* 4, 752-764. DOI: 10.1038/nrmicro1490.

- Wolff, A.P., Costa, G.M. e Dutra, F.C. 2010. A comparative study of ultra-fine iron ore tailings from Brazil. *Mineral Processing & Extractive Metallurgy Review* 32, 47-59. DOI: 10.1080/08827508.2010.530718
- Wu, Y., Liu, T., Li, X. e Fangbai, L. 2014. Exogenous electron shuttle-mediated extracellular electron transfer of *Shewanella putrefaciens* 200: Electrochemical parameters and thermodynamics. *Environmental Science and Technology* 48, 9306-9314. DOI: 10.1021/es5017312.
- Xiao, Y., Liu, X., Ma, L., Liang, Y., Niu, J., Gu, Y., Zhang, X., Hao, X., Dong, W., She, S. e Yin, H. 2016. Microbial communities from different subsystems in biological heap leaching system play different roles in iron and sulfur metabolisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 6871-6880. DOI: 10.1007/s00253-016-7537-1.
- Yalcin, S.E., O'Brien, J.P., Gu, Y., Reiss, K., Yi, S.M., Jain, R., Srikanth, V., Dahl, P.J., Huynh, W., Vu, D., Acharya, A., Chaudhuri, S., Varga, T., Batista, V.S. e Malvankar, N.S. 2020. Electric field stimulates production of highly conductive microbial OmcZ nanowires. *Nature Chemical Biology* 16, 1136-1142. DOI: 10.1038/s41589-020-0623-9.
- Zhang, F., Battaglia-Brunet, F., Hellal, J., Joulain, C., Gautret, P. e Montelica-Heino, M. 2020. Impact of Fe(III) (oxyhydr)oxides mineralogy on iron solubilization and associated microbial communities. *Frontiers in Microbiology* 11:571244. DOI: 10.3389/fmicb.2020.571244