

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS,
METALÚRGICA E DE MATERIAIS - PPGE3M**

Karine Batista dos Santos

**TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS POR
NEUTRALIZAÇÃO/PRECIPITAÇÃO- EFEITO DO pH,
AGENTE NEUTRALIZANTE E TRATAMENTO
COMPLEMENTAR POR BIOSSORÇÃO COM
MICROALGAS**

Porto Alegre

2020

Karine Batista dos Santos

**TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS POR
NEUTRALIZAÇÃO/PRECIPITAÇÃO- EFEITO DO pH,
AGENTE NEUTRALIZANTE E TRATAMENTO
COMPLEMENTAR POR BIOSSORÇÃO COM
MICROALGAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa na modalidade acadêmica.

Orientador: Ivo André Homrich Schneider

Porto Alegre
2020

Esse trabalho foi julgado adequado como dissertação de mestrado em Engenharia, área de concentração de Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalúrgica e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e pela Banca Examinadora do Curso de Pós-Graduação.

Orientador: Prof. Dr. Ivo André Homrich Schneider

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Amanda Gonçalves Kieling

Dr. Fabricio Abella Lopes

Dra. Jéssica Weiler

Prof. Dr. Afonso Reguly
Coordenador do PPGE3M

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela proteção, força e coragem ao longo desta jornada.

À minha mãe Gilvânia Tavares (in memoriam), que sempre esteve ao meu lado guiando meus passos.

Aos meus tios, Eronildes Batista e Núbia Moreira, por todo o incentivo.

Às minhas irmãs, Elayne, Kássia, Luci e Vanessa, por todo apoio e companheirismo.

À Jonas Dantas, por toda paciência e incentivo, sem nunca me deixar desistir.

Ao meu orientador, Ivo Schneider, pela paciência com a qual me instruiu, pela oportunidade e atenção.

Agradeço também aos colegas do Laboratório de Tecnologia Ambiental (LTM), em especial a Vitor Almeida e Jéssica Weiler, pela parceria desde o início e por todo compartilhamento de conhecimento.

À CAPES pela provisão da bolsa de mestrado e a todas as pessoas especiais que cruzaram o meu caminho e aos amigos e amigas que tornam meus dias mais alegres e torceram por mim durante essa etapa.

Muito obrigada!

RESUMO

A drenagem ácida de minas (DAM) gerada pela mineração de carvão promove danos ambientais significativos nos ecossistemas associados à mesma. Atualmente, para resolver esta situação, sistemas ativos de tratamento, valendo-se de processos de neutralização/precipitação têm sido implementados. Esses sistemas proporcionam bons resultados no tratamento do efluente, principalmente na correção do pH e na remoção da maioria dos metais. No entanto, por vezes são parcialmente eficientes na remoção de manganês, arsênio e sulfatos. Métodos passivos de tratamento têm sido empregados como alternativa aos ativos ou como uma etapa de polimento. Algas apresentam a capacidade de acumular poluentes e apresentam potencial de uso como fonte de biomassa como, por exemplo, na produção de biocombustíveis. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi estudar, em escala de laboratório, o tratamento da DAM pelo método neutralização/precipitação considerando diferentes valores de pH e agentes neutralizantes. Simulou-se, também, a aplicação de uma etapa de polimento considerando uma lagoa de maturação com crescimento de algas. Os estudos de neutralização/precipitação foram conduzidos com NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 7,0 \pm 0,1 e 8,7 \pm 0,1. Os experimentos de crescimento de microalgas foram realizadas com o efluente tratado com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no pH 8,7 \pm 0,1 com a espécie *Scenedesmus* sp com e sem a adição de nutrientes. Os resultados foram avaliados em termos de concentração residual de metais, de sulfatos, condutividade e toxicidade com os organismos bioindicadores *Allium cepa* e *Daphnia magna*. Os resultados demonstraram que a melhor condição para o tratamento primário da DAM por neutralização/precipitação é com uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7, proporcionando a maior remoção de metais, redução da condutividade e melhores índices em parâmetros toxicológicos. O efluente tratado nesta condição, após a adição de nutrientes, permitiu o crescimento de 0,65 g L⁻¹ de biomassa em massa seca durante 10 dias. A inclusão de um etapa de tratamento secundário por bio-sorção com microalgas “in vivo” proporcionou melhorias na qualidade do efluente em relação a remoção de concentração residuais de metais, principalmente manganês e arsênio, e da toxicidade para micro crustáceo *Daphnia magna*.

Palavras-chave: mineração de carvão, drenagem ácida de mina (DAM), tratamento de efluentes, microalgas,

ABSTRACT

Acid mine drainage (AMD) generated during coal mining promotes significant environmental damage in the ecosystems associated. Currently, active treatment systems based on neutralization/precipitation processes have been implemented. These systems provide good results in water treatment, especially in pH correction and removal of most metals. However, they are sometimes partially efficient in the removal of manganese, arsenic and sulfate. Passive treatment methods have been also employed as an alternative to these active systems or as a polishing step. Algae have the capacity of uptake pollutants and have potential for use as a source of biomass, for example, in the production of biofuels. Thus, the objective of this work was to study, at a laboratory scale, the treatment of AMD by the neutralization/precipitation method considering different pH values and neutralizing agents. Moreover, it was studied the benefits of the addition of a complementary treatment step simulating algae growth in maturation pond. Neutralization/precipitation studies were conducted with NaOH and Ca(OH)₂ at pH 7.0 ± 0.1 and 8.7 ± 0.1. Algae growth studies were performed with the treated water attained with Ca(OH)₂ at pH 8.7 ± 0.1 with the microalgae *Scenedesmus sp* with and without the addition of nutrients. The results were evaluated in terms of residual concentration of metals and sulfate, conductivity, and toxicity with the organisms *Allium cepa* and *Daphnia magna*. The results showed that the best condition for the primary treatment of AMD by neutralization/precipitation is with the use of Ca(OH)₂ at pH 8.7, allowing the greater metals removal, reduction in the conductivity and the best indexes in the toxicological parameters, and the inclusion of microalgae in a secondary treatment proved efficient, both in relation to physicochemical parameters and toxicological parameters. The treated water, after addition of nutrients, allowed algae growth to 0.65 g L⁻¹ of biomass at dry basis. The inclusion of treatment step by biosorption with “in vivo” microalgae improved the quality of the effluent in terms of removal of residual metals, particularly manganese and arsenium, as the toxicity to the micro crustacean *Daphnia magna*.

Keywords: coal mining, acid mine drainage, waste water treatment, microalgae

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais distritos carboníferos do sul do Brasil.....	20
Figura 2 - Ocorrência de Drenagem ácida de mina em Figueira - PR.....	22
Figura 3- Solubilidade de alguns metais em função do pH28Figura	4-
Tratamento de drenagem ácida de minas na Carbonífera do Cambuí com hidróxido de cálcio.....	29
Figura 5 - Teste ecotoxicológico com <i>Allium cepa</i> realizado para a drenagem ácida de minas antes e após os tratamentos, com contato das raízes com o efluente.....	35
Figura 6 - Imagem microscópica de <i>Daphnia magna</i> com 24h de idade.....	36
Figura 7 - Fluxograma com síntese da metodologia proposta na realização do trabalho	37
Figura 8 - Localização da área de coleta das amostras de DAM no município de Figueira-PR	38
Figura 9 - Cultivo de microalgas <i>Scenedesmus</i> sp na drenagem neutralizada	43
Figura 10 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> em contato com as soluções: (a) H ₂ O (b) Drenagem bruta (c) Tratamento com NaOH em pH 7,0 (d) Tratamento com NaOH em pH 8,7 (e) Tratamento com Ca(OH) ₂ em pH 7,0 (f) Tratamento com Ca(OH) ₂ em pH 8,7	46
Figura 11- Curva de titulação potenciométrica da DAM utilizando o reagente NaOH em solução 10% (m/v).....	50
Figura 12 – Curva de titulação potenciométrica da DAM utilizando o reagente Ca(OH) ₂ em solução 10% (m/v)	51
Figura 13 - Volume de lodo sedimentado após o tratamento com (a) NaOH em pH 7,0 (b) NaOH em pH 8,7 (c) Ca(OH) ₂ em pH 7,0 (d) Ca(OH) ₂ em pH 8,7 .	53
Figura 14 – Eficiência de remoção dos metais Mn, Pb e As com o uso dos reagentes NaOH e Ca(OH) ₂ em pH 7,0 e 8,7	55
Figura 15 - Soma dos teores de metais (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As) para Drenagem bruta e tratamentos com o uso dos reagentes NaOH e Ca(OH) ₂ em pH 7,0 e 8,7.....	56
Figura 16 – Concentração de sulfatos total na DAM bruta e nos efluentes com o uso dos reagentes NaOH e Ca(OH) ₂ em pH 7,0 e 8,7.....	57
Figura 17- Crescimento de microalgas em função do tempo na DAM tratada com Ca(OH) ₂ em pH 8,7, na DAM tratada com Ca(OH) ₂ em pH 8,7 com	

macronutrientes, em Meio Guillard e em água purificada por osmose reversa.	58
Figura 18 - Avaliação do crescimento de microalgas a partir da intensidade de cor: (a) água purificada; (b) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 8,7; (c) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com macronutrientes; e (d) Meio Guillard.....	59
Figura 19 - Soma dos teores de metais (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As) para drenagem bruta e após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7) e após o tratamento por neutralização/precipitação/biossorção Ca(OH)_2 em pH 8,7 e a microalga <i>Secendesmus</i> sp).....	61
Figura 20 - Teor de sulfatos total para Drenagem bruta e tratamentos com Ca(OH)_2 (8,7, 8,7 com algas, 8,7 com algas e macronutrientes).	62
Figura 21 - Resultado do comprimento radicular de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta, após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação e no controle.Fonte: Autora (2019)	63
Figura 22- Resultado da massa das raízes de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta, após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação e no controle.	63
Figura 23 – Imagens de desenvolvimento das raízes de <i>Allium cepa</i> L. após o contato com as seguintes soluções: (a) drenagem ácida de minas bruta (DAM) ; (b) água – amostra de controle; (c) DAM tratada com NaOH em pH 7,0 (d) DAM tratada com NaOH em pH 8,7 (e) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 7,0; e (f) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 8,7.	66
Figura 24- Resultado do comprimento radicular de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e sem adição de nutrientes; e após o tratamento por neutralização precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e adição de nutrientes.	67
Figura 26 – Fluxograma simplificado do roteiro de tratamento da DAM.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aspectos e impactos ambientais associados à atividade de mineração.....	18
Tabela 2 - Produção de carvão mineral bruto na região sul do Brasil, em milhões t - 1995 a 2015.....	20
Tabela 3 - Sulfetos mais comumente encontrados na mineração e seus produtos após oxidação	23
Tabela 4 – Concentração média dos componentes da drenagem ácida de minas comparados ao padrão de lançamento estabelecido pela Resolução CONAMA nº430 de 2011	25
Tabela 5- Métodos de controle da drenagem ácida de minas conforme Kontopoulos (1998).....	26
Tabela 6- Principais compostos químicos aplicados em tratamento ativo de drenagem ácida de minas e sua eficiência de neutralização	27
Tabela 7 - Equipamentos utilizados no estudo experimental	39
Tabela 8 - Reagentes empregados no estudo experimental.....	40
Tabela 9 - Descrição dos reagentes e condições de tratamento empregadas no presente estudo.....	41
Tabela 10 - Composição do Meio Guillard modificado.....	42
Tabela 11 – Caracterização da DAM bruta empregada neste estudo.....	49
Tabela 12 – Volume e massa de lodo sedimentado no Cone de Imhoff no tratamento por neutralização/precipitação de DAM com NaOH e Ca(OH) ₂ nos valores de pH 7,0 e 8,7 (n = 3).....	52
Tabela 13 – Análise química da DAM bruta e dos efluentes tratados com o procedimentos de neutralização/precipitação de DAM empregando os reagentes NaOH e Ca(OH) ₂ nos valores de pH 7,0 e 8,7 (n = 3).....	54
Tabela 14 - Caracterização do efluente após o contato com as algas para polimento.....	60
Tabela 15 - Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Inibição (Li) das raízes de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.....	64

Tabela 16 - Índice de germinação das raízes de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.....	65
Tabela 17 - Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Inibição (Li) das raízes de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta, após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; e após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas com e sem adição de nutrientes.....	68
Tabela 18 - Índices de germinação das raízes de <i>Allium cepa</i> para a DAM bruta, após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; e após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas com e sem adição de nutrientes.	69

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANOVA: Análise de variância

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

DAM: Drenagem Ácida de Minas

DAR: Drenagem ácida de rochas

DNPM: Departamento Nacional de Produção Mineral

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ICR: índice de crescimento relativo

IG: Índice de germinação

li: Índice de inibição

LTM: Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental

m/v: massa/volume

N.A.: Não se aplica

pH: potencial Hidrogeniônico

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

ABSTRACT	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	10
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Mineração e meio ambiente	18
3.1.2 Mineração de Carvão no Brasil	19
3.2 Drenagem ácida de minas	21
3.5 Métodos de controle e tratamento de DAM	25
3.6 Tratamento de DAM por neutralização/precipitação	26
3.7 Tratamento secundário – Biossorção	29
3.7.1 <i>Scenedesmus</i> sp	31
3.8 Aspectos toxicológicos associados à DAM	32
3.8.1. <i>Allium cepa</i> como biondicador	34
3.8.2. <i>Dahpnia magna</i> como biondicador	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 Materiais	38
4.1.2 Amostra de Drenagem ácida de minas	38
4.1.3 Equipamentos	39
4.1.4 Água e Reagentes	39
4.2 Métodos	40
4.2.2. Tratamento Químico da DAM	41
4.2.3 Tratamento por Biossorção com Microalgas	41

4.3. Análises.....	44
4.3.1. Análises químicas	44
4.3.2 Análise de toxicidade com <i>Allium cepa</i>	45
4.3.3. Análise de toxicidade com <i>Daphnia magna</i>	47
4.4. Repetições e apresentação de resultados estatísticos	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Caracterização do efluente	49
5.2. Tratamento da DAM por neutralização/precipitação	52
5.3 Tratamento secundário por bioSORÇÃO com microalgas.....	57
5.4. Toxicidade.....	62
5.4.1 <i>Allium cepa</i>	62
5.4.2 <i>Daphnia magna</i>	69
5.5 Sugestão de sistema de tratamento de drenagem ácida de minas.....	71
6 CONCLUSÕES	73
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	75
8 REFERÊNCIAS.....	76
ANEXO 1 – Relatório de ensaio de toxicidade Drenagem ácida sem tratamento	85
ANEXO 2 – Relatório de ensaio de toxicidade NaOH pH 7,0	87
ANEXO 3 – Relatório de ensaio de toxicidade NaOH pH 8,7	89
ANEXO 4 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH) ₂ pH 7,0.....	91
ANEXO 5 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH) ₂ pH 8,7	93
ANEXO 6 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH) ₂ pH 8,7 + inóculo..	95
ANEXO 7 - Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH) ₂ pH 8,7 + inóculo + macronutrientes.....	97

1. INTRODUÇÃO

A Drenagem Ácida de Minas (DAM) é gerada a partir da oxidação de minerais sulfetados quando entram em contato com a água e o ar. As principais características da DAM incluem o baixo pH, alta concentração de metais dissolvidos, alta condutividade elétrica e alta concentração de sulfatos. Dentre os metais dissolvidos comumente presentes na DAM, encontram-se em concentração significativas Fe, Al, Mn, Ca, Mg, Cu, Zn, Ni, Pb e As. Estes metais, quando atingem mananciais hídricos, podem ser incorporados à cadeia alimentar, podendo provocar graves alterações ecológicas. A solubilidade desses elementos varia em função do pH do meio, aumentando substancialmente em meio ácido (Ridge e Seif, 1998; Kefeni *et al*, 2017).

De forma a impedir os danos causados pela DAM, tratamentos ativos por neutralização e precipitação química seguida por sedimentação ou flotação têm sido aplicados (Skousen *et al*, 1998; Silveira *et al*, 2009). O tratamento consiste na neutralização da acidez com reagentes alcalinos e precipitação de íons metálicos da solução aquosa na forma de hidróxidos, visando a obtenção de um efluente com condições de atender os padrões emissão previstos – no caso do Brasil na Resolução CONAMA Nº 430/2011. Os reagentes que são comumente usados são o hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e o hidróxido de sódio (NaOH). O hidróxido de sódio geralmente tem um poder maior de neutralização do que o hidróxido de cálcio, mas tem um custo maior (Skousen *et al*, 1996; Skousen *et al*, 2019). A escolha do melhor pH, o qual pode variar de 6 a 9, depende dos metais dissolvidos a serem removidos. Algumas estações adotam um pH neutro, outras um pH levemente alcalino quando é necessário remover manganês juntamente com outros metais. Considerando as plantas de tratamento de drenagem ácida no Brasil, o reagente mais empregado é o hidróxido de cálcio, elevando o pH do efluente para 8,7. Porém, os tratamentos convencionais nem sempre são capazes de remover íons sulfato do efluente, assim como os níveis de manganês, arsênio e eventuais outros metais para os limites de emissão estabelecidos.

Métodos de tratamento passivo também são aplicados no controle de DAM e, dependendo das características do efluente a ser tratado, podem ser

utilizados de forma isolada ou como parte de um sistema de tratamento secundário (Skousen et al, 2017). Estudos sugerem o uso de algas para remover metais da DAM (Freitas et al., 2011; Bwapwa et al., 2017), uma vez que podem atuar como acumuladores de metais por mecanismos de absorção e/ou adsorção. Espécies de algas de gêneros como *Spirulina*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Cladophora*, *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Phaeodactylum tricornutum* mostraram capacidade de remover um volume considerável de metais da DAM. Sistemas de crescimento de algas também podem gerar alcalinidade e encaminhar a água tratada em melhores condições para o meio ambiente. Além disso, pode-se gerar biomassa com possibilidade de uso como, por exemplo, matéria-prima para biocombustíveis (Edmundson e Wilkie, 2013).

Os sistemas de tratamento de DAM geralmente são monitorados por meio de parâmetros químicos. Contudo, a avaliação do potencial tóxico também é muito relevante, pois a toxicidade ambiental associada à DAM é preocupante devido aos altos níveis de acidez e às altas concentrações de íons dissolvidos. Os contaminantes podem se bioacumular nos tecidos de vários organismos ao longo do tempo, causando efeitos danosos e até mesmo a morte devido ao comprometimento respiratório e osmorregulatório (Gunn *et al*, 2010). Em plantas, a exposição a metais pode provocar efeitos tóxicos como alterações estruturais, fisiológicas e bioquímicas, afetando a fluidez, fluxo de água e nutrientes, reduzindo o crescimento vegetal e, conseqüentemente, a produção de biomassa (Ridge e Seif, 1998; Tamás *et al.*, 2006; Geremias *et al.*, 2008).

Para avaliar o nível tóxico de drenagens ácidas e analisar a eficácia de alguns sistemas de tratamento têm-se empregado ensaios de toxicidade com microcrustáceos e plantas (Svensson *et al.*, 2005; Saurabh *et al.*, 2005). Organismos teste como *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* e *Allium cepa* foram aplicados em estudos ecotoxicológicos de DAM. Sivula *et al.* (2018) avaliou a toxicidade associada a uma DAM utilizando o organismo *Daphnia Magna*, devido à alta sensibilidade do organismo às mudanças ambientais, principalmente quanto à toxicidade dos metais e variação da acidez. Steyn *et al.* (2019) optou por avaliar a eficácia do tratamento da DAM utilizando os organismos *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, por serem métodos rápidos e simples. Com o primeiro, pode-se avaliar a fitotoxicidade de substâncias à base

de germinação de sementes e, com o segundo, pela inibição do crescimento da raiz. Geremias *et al.* (2012) avaliaram a efetividade do tratamento da DAM utilizando o organismo *Allium cepa*, e justificaram seu uso destacando vantagens como baixo custo, alta sensibilidade, reprodutibilidade e alta produtividade. Neste caso em particular, uma alta toxicidade crônica foi observada quando *Allium cepa* foi exposta a uma DAM não tratada. Ocorreram alterações no crescimento das raízes, em indicadores de estresse oxidativo e no índice de dano no DNA quando comparadas a DAM tratada e ao controle. Todavia, após o tratamento, esses parâmetros de toxicidade não foram detectados.

Acrescenta-se que o uso de *Allium cepa* como bioindicador ganhou espaço por permitir analisar os efeitos toxicológicos de ambientes contaminados por poluentes contendo metais devido à alta sensibilidade do teste aos sais e aos metais tóxicos. Com o teste de toxicidade com o organismo *Allium cepa* podem ser avaliados diversos parâmetros fitotóxicos, tais como, bioacúmulo de contaminantes em diferentes tecidos (raízes, folhas e bulbos) e inibição de crescimento tecidual (Fiskesjo, 1985; Leme & Marin-Morales, 2008; Fatima e Ahmad, 2006; Geremias, 2012).

Neste contexto, deve-se ressaltar que há uma carência de estudos sistemáticos envolvendo variações no pH e do tipo de agente alcalinizante no tratamento da DAM. Ainda, pouco se sabe sobre os benefícios de aplicação de uma etapa de polimento, no presente caso um sistema de tratamento com a microalga da espécie *Scenedesmus* sp. Assim, diferentes situações de tratamento – pH 7,0 com NaOH, pH 7,0 com Ca(OH)₂, pH 8,7 com NaOH, pH 8,7 com Ca(OH)₂ e pH 8,7 com Ca(OH)₂ seguido de uma etapa complementar de bioissorção com algas – foram estudadas. Os resultados obtidos foram avaliados em termos da análise química do efluente final e estudos toxicológicos com *Allium cepa*. Ainda, os resultados de toxicidade obtidos com este indicador foram comparados com teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia magna*, um dos métodos mais empregados na avaliação da toxicidade de efluentes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar, em escala de bancada, o efeito do pH e do agente alcalinizante no tratamento de uma amostra de drenagem ácida de minas. Estudou-se, também, o efeito da adição de uma etapa de polimento por biossorção com a alga da espécie *Scenedesmus sp.*

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar uma amostra de DAM em termos de parâmetros químicos;
- Estudar, de forma comparativa, o processo de precipitação dos metais da DAM com NaOH e Ca(OH)_2 nos valores de pH $7,0 \pm 0,1$ e $8,7 \pm 0,1$;
- Avaliar a eficiência de uma etapa de tratamento com a microalga *Scenedesmus sp.* de forma complementar ao tratamento convencional da DAM na remoção de metais tóxicos;
- Caracterizar o efluente tratado, com o intuito de analisar a eficiência dos tratamentos realizados, em termos de parâmetros físico-químicos e de fitotoxicidade com o organismo teste *Allium cepa* e *Daphnia magna*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica deste trabalho englobou aspectos básicos envolvidos no que diz respeito a drenagem ácida de minas, ao tratamento físico-químico de efluentes, a utilização de um tratamento secundário na remoção de metais fazendo uso de microalgas e um estudo de toxicidade utilizando *Allium cepa* e *Daphnia magna* como organismos testes.

3.1 Mineração e meio ambiente

A atividade de exploração mineral é fundamental para o desenvolvimento da sociedade e sua importância deve ser atualizada de acordo com as novas demandas de mercado, do meio ambiente e população. A mineração é uma atividade que impulsiona o desenvolvimento e favorece o progresso econômico, sendo fundamental para a implantação da infraestrutura, tecnologia, bem estar e melhoria da qualidade de vida (Lorenzo, 2015).

Assim como as demais atividades econômicas, a mineração é cercada por impactos positivos e negativos. A Tabela 1 apresenta uma síntese dos principais aspectos e impactos resultantes desta atividade.

Tabela 1 - Aspectos e impactos ambientais associados à atividade de mineração

Meio impactado	Impactos ambientais
Físico	Alterações na qualidade do ar
	Perturbação de fauna e vizinhança
	Instabilidade de terreno
	Alterações de morfologia
	Alterações de turbidez
	Alterações no pH
	Desvio e assoreamento de corpos hídricos
	Compactação do solo
	Contaminação químicas
	Erosão
Biótico	Supressão da vegetação
	Redução de flora
	Redução de habitats da fauna
Socioeconômico	Incremento em empregos e renda
	Modificação da paisagem

(Fonte: Adaptado de van Huyssteen, 1998)

O carvão mineral é um recurso não renovável. A mineração de carvão impacta o meio físico, sendo considerada de grande impacto ambiental. Dentre os diversos fatores que tornam a mineração de carvão degradadora ao meio ambiente estão o desmatamento, a alteração paisagística e topográfica, a perda de solos superficiais férteis, a exposição de áreas a fenômenos como erosão e assoreamento, a mudança de níveis freáticos e a alteração da qualidade de corpos d'água. Além disso, devem-se levar em consideração que, durante a extração do carvão, são realizadas operações de perfuração, desmonte, transporte e beneficiamento. Para tais atividades, são utilizados explosivos, energia elétrica, queima de combustíveis, produtos químicos, quantidades relevantes de água, entre outros. Ainda, a disposição de rejeitos exige o controle e o tratamento da água (Kopezinski, 2000).

Segundo Farfán (2004), dentre os impactos da mineração de carvão, um que apresenta expressivo e significativo impacto é a poluição hídrica causada pela drenagem ácida de minas, visto que, à medida que as soluções ácidas geradas por DAM penetram no solo, podem solubilizar alguns metais tóxicos presentes, podendo comprometer a qualidade de águas superficiais e/ou subterrâneas. A contaminação dos mananciais hídricos por esse efluente prejudica a flora e a fauna, bem como as atividades humanas (Schneider, 2006).

No entanto, a relevância e importância econômica do uso de carvão é inquestionável, e provavelmente o carvão não deixará de ser, tão cedo, um importante insumo para geração de energia (Piva, 2010). Portanto, há a necessidade de encontrar maneiras de reduzir e/ou remediar os impactos causados pela atividade.

3.1.2 Mineração de Carvão no Brasil

As jazidas de carvão brasileiras se caracterizam por ser de baixo "rank", com expressiva quantidade de cinzas, de enxofre e ferro (Kalkreuth, 2006). O carvão possui altos teores de cinzas, entre 47% e 58%, e valores de enxofre

que variam de 1,0% e 4,7%. Esta composição faz com que o carvão tenha seu uso quase que exclusivamente para produção de energia térmica.

Dados publicados pelo Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), no Anuário Mineral Brasileiro do Ano Base 2010, indicam que os estados de maior relevância na mineração de carvão são o Rio Grande do Sul e Santa Catarina, seguidos pelo Paraná. A Tabela 2 exibe a quantidade de carvão mineral produzida na região sul do Brasil no período de 1995 a 2015.

Tabela 2 - Produção de carvão mineral bruto na região sul do Brasil, em milhões t - 1995 a 2015

UF	1995	2000	2005	2010	2013	2015
PR	0,3	0,1	0,3	0,3	0,3	0,4
SC	3,9	4,5	4,3	4,8	5,7	5,4
RS	6,0	9,7	8,3	6,7	8,5	7,1
Total	10,1	14,3	12,8	11,8	14,5	12,9

Fonte: DNPM (2016)

Em Santa Catarina, a produção de carvão mineral encontra-se predominantemente nos municípios de Lauro Muller, Treviso, Forquilha, Criciúma e Urussanga e, no Rio Grande do Sul, nos municípios de Candiota, Arroio dos Ratos, Butiá, Minas do Leão e Cachoeira do Sul. (DNPM, 2010). A Figura 1 apresenta os principais distritos carboníferos do sul do País.

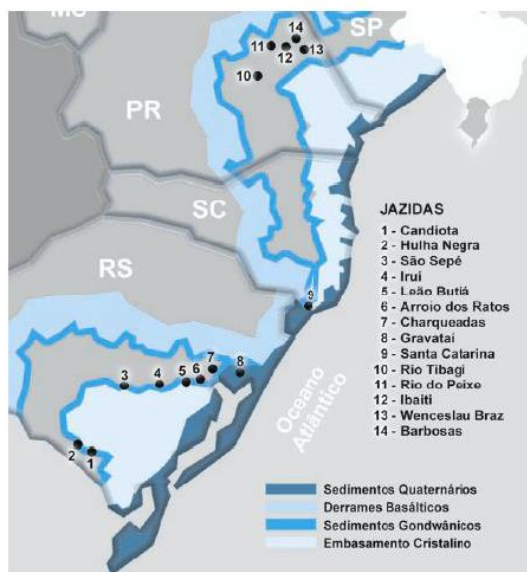


Figura 1 - Principais distritos carboníferos do sul do Brasil
Fonte: Monteiro (2004)

O processo de degradação do meio ambiente na região de sul de Santa Catarina teve início com as atividades de mineração de carvão do século XX. Ao longo dos anos, um conjunto de ações, tais como o descaso das mineradoras, poucas e ineficientes iniciativas das autoridades governamentais e a falta de cuidado com o meio ambiente levaram a um quadro sério de degradação ambiental (Casseiro, 2004).

No entanto, o cenário tem se modificado. O setor carbonífero está em expansão e não é possível desconsiderar as implicações ambientais desta atividade que são bastante significativas. As mineradoras têm buscado reduzir os impactos ambientais nos novos empreendimentos e mitigar os passivos ambientais por meio de políticas internas e externas. Os grandes desafios estão relacionados a obras de mitigação, desenvolvimento de tecnologias mais limpas e investimentos em inovação.

3.2 Drenagem ácida de minas

A Drenagem Ácida de Mina (DAM) é um fenômeno que se inicia quando rochas, que tem em suas composições minerais sulfetados, são expostas, e os sulfetos se oxidam por reação com água, oxigênio atmosférico e microrganismos acidofílicos. Apesar de também ocorrer naturalmente, este processo está associado à mineração, pois a mesma é responsável por movimentar grandes quantidades de rochas e expor o material às condições do intemperismo (Skousen et al, 1998; Akcil & Koldas, 2006).

A ocorrência da DAM pode se dar devido a extração de ouro, carvão, cobre, zinco ou urânio, entre outros, e a disposição inadequada dos resíduos dessas atividades favorece a exposição à ações oxidantes da presença de ar e água (Miller, 1992; Souza *et al.*, 2001).

A nomenclatura drenagem ácida de rochas (DAR) também é utilizada no lugar de DAM. Esta denominação é geralmente aplicada em alusão à drenagens geradas como resultado de atividades que não estão ligadas à mineração (Souza *et al.*, 2001). Na Figura 2, pode-se observar o aspecto de uma DAM em decorrência da mineração de carvão no município de Figueira-PR.



Figura 2 – Ocorrência de Drenagem ácida de mina no município de Figueira - PR
Fonte: CAMPANER, 2005.

A DAM se caracteriza como um efluente com baixo pH, na faixa de 2 a 3, elevadas concentrações de sulfatos e elevadas concentrações de íons metálicos dissolvidos, como o ferro, na forma de Fe^{2+} e/ou Fe^{3+} , manganês, zinco, alumínio, cádmio, chumbo, arsênio, cromo, entre outros. (KONTOPOULOS, 1998) Dentre os componentes que constituem a DAM, a presença de metais dissolvidos (Fe^{2+} e Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{2+} e Mn^{4+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} e Cu^{2+}), íon hidrogênio e enxofre dissolvidos, normalmente como sulfato, são tóxicos aos organismos aquáticos ou interferem nos usos da água. (Skousen et al., 1998; Vasquez, 2007).

3.3 Mecanismo de geração de DAM

As drenagens ácidas de mina ocorrem principalmente quando os sulfetos presentes nos resíduos da mineração reagem quimicamente e biologicamente, gerando um efluente ácido, aliado a um clima úmido o bastante para que a chuva infiltre e percole através do resíduo e/ou o resíduo esteja localizado em uma área exposta a fluxos de água favorecendo o transporte da drenagem para o ambiente (Hutchinson e Ellison, 1992).

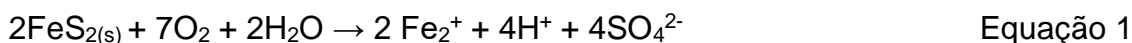
Embora a pirita (sulfeto de ferro - FeS₂) seja a principal fonte de DAM associada à mineração de carvão, outros sulfetos são frequentemente encontrados na mineração. Alguns destes estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Sulfetos mais comumente encontrados na mineração e seus produtos após oxidação

Mineral	Espécies aquosas após oxidação completa
Pirita	FeS ₂ Fe ³⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Marcassita	FeS ₂ Fe ³⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Pirrotita	Fe _{1-x} S Fe ³⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Calcopirita	CuFeS ₂ Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Calcocita	Cu ₂ S Cu ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Molibdenita	MoS ₂ MoO ₄ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Cobalita	CoAsS Co ²⁺ , AsO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺
Galena	PbS Pb ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , H ⁺

(Fonte: Adaptado de Hutchinson & Ellison, 1992)

A pirita (FeS₂), é a maior e mais comum fonte de geração de DAM em mineração de carvão (Akcil e Koldas, 2006). A primeira reação importante é a oxidação direta da pirita na presença de oxigênio atmosférico e água em ferro, sulfato e hidrogênio dissolvidos. Esta reação é dada pela Equação 1. (Kontopoulos, 1998; Akcil e Koldas, 2006)

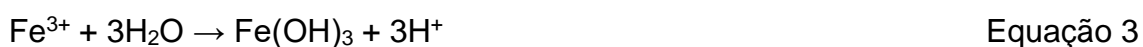


A Equação 1 produz acidez e, se o potencial de oxidação for mantido, ocorrerá a oxidação do íon ferroso do estado de oxidação Fe²⁺ para o íon férrico Fe³⁺, consumindo parte da acidez pelos íons Fe²⁺, conforme pode ser observado na Equação 2.



Essa reação ocorre em valores de pH mais elevados (acima de 4,5). Em valores de pH menores que 4,5, a oxidação do íon ferroso (Fe^{2+}) a férrico (Fe^{3+}), somente na presença de oxigênio, passa a ser muito baixa. Entretanto, a reação pode ser acelerada pela ação de bactérias quimiolitotróficas acidófilas do gênero *Thiobacillus*, que catalisam a reação da Equação 2 e aceleram a mesma em até 10^6 vezes.

Se o pH da solução for maior do que 3, o Fe^{3+} poderá reagir com íons hidroxila (OH^-), provocando a hidrólise e precipitação na forma de hidróxido e gerando acidez devido a liberação de íons H^+ , conforme Equação 3.



Alternativamente, a oxidação da pirita poderá ocorrer pela reação indireta se os íons Fe^{3+} gerados na reação da Equação 2 estiverem dissolvidos, através da reação indicada na Equação 4.



O Fe^{2+} resultante da reação da Equação 4 poderá ser oxidado para Fe^{3+} pela reação da Equação 2 e estará novamente disponível para oxidar a pirita, entrando em um ciclo crescente, conhecido como “autocatálise”. O ciclo permanece até que toda pirita acessível aos agentes da reação tenha sido consumida. O baixo pH da água aumenta a solubilidade de outros metais existentes no meio. No caso da mineração de carvão, além do ferro, a DAM apresenta valores significativos de alumínio, manganês e zinco; pode também apresentar cobre, níquel, chumbo, arsênio e outros metais, dependendo da região e gênese do carvão.

3.4 Padrão de Lançamento

No Brasil, a legislação para o limite de emissão de efluentes no corpo receptor é feita através da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) N°430 de 13 de maio de 2011, que visa obter níveis de descarte de poluentes dentro do padrão aceitável. A Tabela 4 compara o padrão de lançamento estabelecido pela Resolução com os valores médios encontrados em DAM de mineração de carvão (Mueller, 2003).

Tabela 4 – Concentração média dos componentes da drenagem ácida de minas comparados ao padrão de lançamento estabelecido pela Resolução CONAMA nº430 de 2011

Parâmetro	Drenagem ácida de minas	Padrão de lançamento (CONAMA 430/2011)
pH	2 - 4	5 – 9
Acidez (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	100	-
Sulfato (mgL ⁻¹)	1000 - 10000	-
Ferro (mgL ⁻¹)	10 - 1000	15 mg L ⁻¹
Alumínio (mgL ⁻¹)	10 - 1000	-
Manganês (mgL ⁻¹)	5 - 100	1 mg L ⁻¹
Cobre (mgL ⁻¹)	ND - 1	1 mg L ⁻¹
Zinco (mgL ⁻¹)	ND - 5	5 mg L ⁻¹
Cádmio (mgL ⁻¹)	ND	0,2 mg L ⁻¹
Chumbo (mgL ⁻¹)	ND	0,5 mg L ⁻¹

Fonte: adaptado de Mueller (2003)

3.5 Métodos de controle e tratamento de DAM

É importante prevenir a contaminação do meio ambiente pela drenagem ácida. Kontopoulos (1998) classifica os métodos de controle em três categorias: métodos preventivos, de contenção e remediação. Os métodos preventivos são aqueles em que o processo de oxidação dos sulfetos e formação de drenagem ácida é evitado ou substancialmente reduzido, por meio da redução do contato dos sulfetos com a água e/ou oxigênio. Os métodos de contenção têm o objetivo de evitar ou reduzir a liberação de DAM, através da construção de diques, canais e sistemas que minimizem o contato do efluente ácido com o meio ambiente. Os métodos de remediação baseiam-se no tratamento da drenagem ácida e são classificados em ativos ou passivos. Os métodos ativos são aqueles que empregam a dosagem contínua de reagentes químicos e um controle operacional intenso, demandando de uma infraestrutura que envolve recursos humanos e equipamentos. Nos métodos passivos, não é necessário o controle operacional intensivo, como por exemplo, leitos de calcário e banhados construídos. A Tabela 5 faz um resumo geral dos métodos mais aplicados no controle e remediação de DAM.

Tabela 5- Métodos de controle da drenagem ácida de minas conforme Kontopoulos (1998)

Métodos preventivos	<ul style="list-style-type: none"> - Remoção/isolamento de sulfetos - Coberturas secas - Coberturas úmidas - Aditivos alcalinos
Métodos de contenção	<ul style="list-style-type: none"> - Paredes reativas porosas; - Disposição em estruturas de contenção.
Métodos de remediação	<p>Sistemas ativos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Neutralização e precipitação - Adsorção/troca iônica <p>Sistemas passivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Leitões de calcários - Barreira permeável reativa; - Wetlands; - Reator de fluxo vertical.

Fonte: Adaptado de Kontopoulos (1998)

O método de tratamento ativo de drenagem ácida mais utilizado ocorre por meio de processos de neutralização da acidez com reagentes alcalinos e precipitação dos íons metálicos da solução aquosa na forma de hidróxidos, de forma a se obter um efluente em conformidade com a legislação vigente. Quando a qualidade final do efluente não for satisfatória, poderão ser utilizados métodos complementares (Brown et al., 2002; Silveira et al., 2009; Wang et al., 2019). Devido a importância desse método neste trabalho, será a seguir melhor detalhado.

3.6 Tratamento de DAM por neutralização/precipitação

O tratamento consiste na neutralização do fluxo aquoso para a precipitação dos metais na forma de hidróxidos. O primeiro passo do tratamento consiste em neutralizar a acidez da drenagem com a adição de um material alcalinizante. O reagente eleva o pH e fornece íons hidroxila (OH^-) para reagir com os íons metálicos dissolvidos na água, a fim de formar hidróxidos metálicos insolúveis que precipitam, sendo removidos posteriormente através de processos de separação sólido-líquido. Os reagentes que são normalmente utilizados são o hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) e o hidróxido de sódio (NaOH). A

soda cáustica costuma ter um poder de neutralização maior que a cal, porém tem um maior custo, como pode ser observado na Tabela 6 (Skousen, 2018).

Tabela 6- Principais compostos químicos aplicados em tratamento ativo de drenagem ácida de minas e sua eficiência de neutralização

Composto	Fórmula	Eficiência da neutralização
Carbonato de cálcio	CaCO ₃	30%
Hidróxido de cálcio	Ca(OH) ₂	90%
Oxido de Cálcio	CaO	90%
Carbonato de sódio	Na ₂ CO ₃	60%
Hidróxido de sódio	NaOH	100%
Amonia anidra	NH ₃	100%

Fonte: Adaptado de Skousen (2018)

Para se obter sucesso no tratamento químico por neutralização, deve-se avaliar fatores como estado de oxidação, concentração e interação entre os metais dissolvidos, pois estes influenciam consideravelmente na velocidade da reação e eficiência na remoção.

O pH requerido para precipitar os metais presentes na DAM varia de acordo com o tipo de metal. O hidróxido férrico precipita em pH acima de 3,5, o hidróxido de alumínio na faixa de pH entre 4,5 e 9,0 e o hidróxido de manganês em pH acima de 8,5 (Possa et al., 2003). Em vista disso, considera-se o tratamento da DAM é realizado em pH neutro ou levemente alcalino. No Brasil, na maioria das estações de tratamento da DAM, o valor de ajuste do pH fica entre 8,5 e 8,7, permitindo uma maior remoção de manganês. A Figura 3 apresenta a solubilização de alguns metais em função do pH.

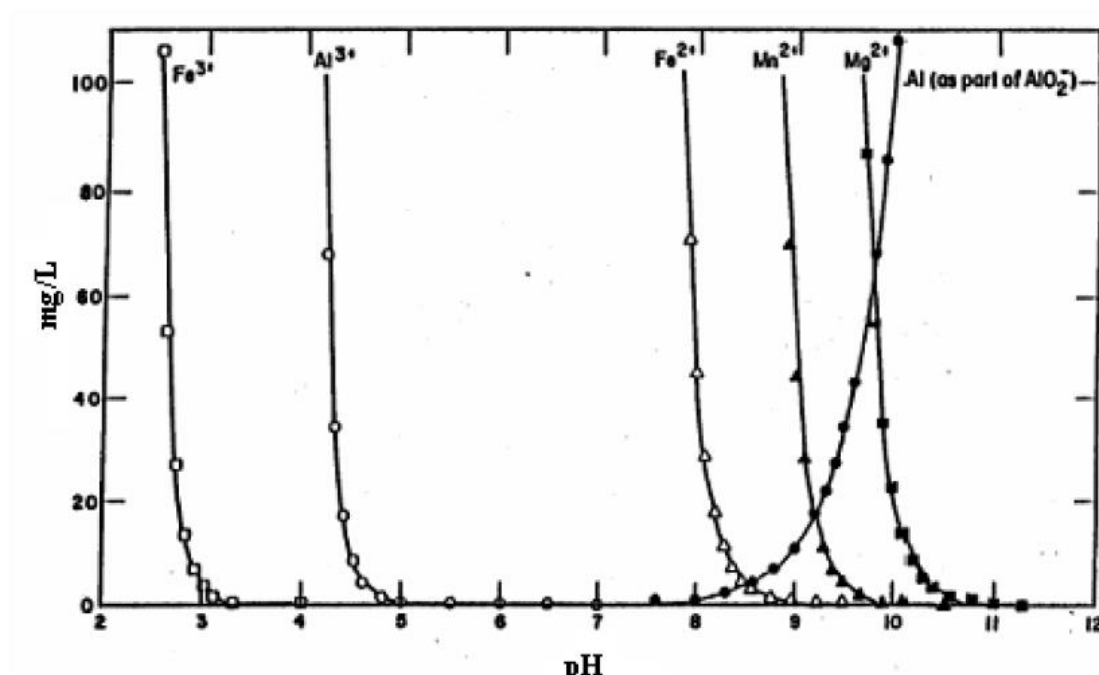


Figura 3- Solubilidade de alguns metais em função do pH

Fonte: Barbosa et al (2002)

Alguns aspectos mais específicos também devem ser levados em consideração. Em drenagens ácidas que possuem baixa concentração de oxigênio dissolvido, o ferro encontra-se predominante na forma Fe^{2+} . A precipitação do Fe^{2+} ocorre na forma de hidróxido ferroso ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) em pH acima de 8,5. Na presença de oxigênio, o íon ferroso Fe^{2+} se oxida a íon férrico Fe^{3+} e precipita em pH próximo a 3,5. (Possá et al., 2003). Na Figura 4 pode-se observar a etapa de tratamento de drenagem ácida de mina na Carbonífera do Cambuí, no Paraná, BR.



Figura 4- Tratamento de drenagem ácida de minas na Carbonífera do Cambuí com hidróxido de cálcio
Fonte: CAMPANER (2005).

A precipitação do manganês geralmente ocorre em valores de pH variando de 9 a 9,5. Devido à interação entre os metais, se a concentração de ferro presente na drenagem for muito superior a concentração de manganês ($Fe/Mn > 4$), a co-precipitação com ferro pode promover uma remoção considerável do manganês em pH próximo a 8 (Possá *et al.*, 2003).

3.7 Tratamento secundário – Biossorção

Dentre as técnicas de tratamento biológico, a biossorção é uma das mais estudadas. De acordo com Naja *et al.* (2010), a biossorção é um processo no qual existe a ligação passiva de íons de metal ou elementos radioativos por uma fonte de biomassa, ou seja, ocorre uma retenção desses metais ou elementos na biomassa. Materiais biossorventes podem ser microrganismos, algas marinhas, cascas de frutas ou resíduos. Os organismos podem ser aplicados tanto “vivo” como “mortos”. Em alguns casos, quando aplicados como biomassa em um meio de adsorção, devem ser resistentes à pressão,

possuir permeabilidade à água e uma rigidez considerável. Com isso, a biossorção para a remoção de metais pesados tóxicos é muito adequada como um tratamento de “polimento” de águas residuais (Volesky, 2003).

Algas marinhas (macro e microalgas) são umas das principais biomassas estudadas, por serem facilmente obtidas, e por já terem um histórico de acumulação de metais. As microalgas têm uma estrutura de composição química bastante diversificada e com grande potencial para usos em biotecnologia. Basicamente, compõem-se de proteínas, carboidratos e lipídios, e cada um destes componentes são alvos de diversos estudos para reaproveitamento. As microalgas possuem diversas vantagens, como a diversidade de locais onde podem ser produzidas, crescimento acelerado, boa produtividade e boa adaptabilidade (Franco *et al.*, 2013; Ramirez, 2013).

A utilização de microalgas no tratamento de efluentes têm se mostrado eficiente e atraído grande interesse devido à sua capacidade de bioacumulação de metais (Benabdallah *et al.*, 2017) ao passo que produz uma biomassa potencialmente valiosa (Gendy e El-Temtamy, 2013). Devido à sua composição, a biomassa de microalgas é amplamente utilizada na produção de biocombustíveis e produtos químicos, além de possuir aplicações na produção de alimentos, energia elétrica, fertilizantes ou síntese de produtos químicos finos (Wang *et al.*, 2010; Wen *et al.*, 2011; Grima *et al.*, 2013; Rashid *et al.*, 2013; Anastopoulos e Kyzas, 2015; Ripoll *et al.*, 2017).

A utilização de algas para processos de biossorção é uma opção viável, por possuir baixo custo (Flores-Chaparro *et al.*, 2017) e a alta capacidade de adsorção, de crescer novamente nos locais de cultivo e por serem muito abundantes. Além disso, o processo de biossorção através de algas é considerado simples, com pouca geração de resíduos, fácil de operar e com possibilidade de regeneração do adsorvente (Yi *et al.*, 2016). Bulgariu e Bulgariu (2016) destacam que, além de cultivar as algas especialmente com a finalidade de transformá-la em um adsorvente, pode-se optar por utilizar os resíduos das mesmas e que são gerados em alguns processos como, por exemplo, os resíduos de algas gerados a partir da produção de biodiesel, posteriormente ao processo de extração. Nesse caso, haveria

reaproveitamento do resíduo gerado e, conseqüentemente, redução de custos com tratamento ou destinação final adequada para os resíduos de algas.

Muitos estudos demonstraram o uso bem-sucedido de culturas de algas no tratamento de vários tipos de águas residuais (Li et al., 2011; Wang et al., 2010; Ji et al., 2014; Gouveia et al., 2016). Os estudos mencionados foram focados no crescimento de microalgas e remoção de nutrientes de águas residuais e efluentes. Foram conduzidos como um tratamento secundário e, em alguns casos, suplementado com um nutriente.

Chernikova et al. (2006) realizaram um estudo no qual verificaram a capacidade da microalga *Spirulina platensis* de acumular manganês. Os resultados mostraram que a *Spirulina* apresenta uma alta capacidade de acumular manganês nas suas células, viáveis ou não, e pode, portanto, servir como um bom bioissorvente para o processo de bioissorção.

Vijayaraghavan et al. (2008) estudaram a aplicação de macroalgas do gênero *Sargassum* na remoção de metais em águas contaminadas. Os resultados foram bem satisfatórios em relação à bioissorção do chumbo e cobre, cuja eficiência de remoção alcançou quase 100% e 80%, respectivamente.

3.7.1 *Scenedesmus* sp.

A espécie de microalga aplicada neste estudo foi a *Scenedesmus* sp., uma das primeiras microalgas a ser cultivada *in vitro*, destacando-se por ser uma espécie resistente a inúmeros fatores ambientais. Possuem forma elipsoidal e as colônias são planas com as células agrupadas em número de 4 ou 8 (Stankiewicz et al., 1981).

Possui um crescimento rápido e capacidade de sobrevivência num vasto intervalo de temperatura, suportando temperaturas entre 20 e 38°C (Menezes e Dias, 2001; Lourenço, 2006).

O meio de cultivo das algas é um fator de extrema importância para obter um crescimento ótimo das microalgas. São necessários alguns nutrientes para que as funções das microalgas sejam plenas e, dada a ausência de algum, o

seu crescimento pode ser deficitário. Diante disto, diversos pesquisadores realizam estudos relacionados ao desenvolvimento dos meios de cultura para microalgas, com as mais variadas características (Lourenço, 2006).

Um meio de cultivo sintético que vem sendo utilizado para o cultivo de *Scenedesmus sp* é o baseado nos estudos de Guillard (1975), que é composto por macronutrientes (C, N, P, S) e micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Mo, Co) que originalmente era utilizado para o cultivo de fitoplancton para alimentar invertebrados. Neste estudo, a microalga *Scenedesmus sp.* foi cultivada no meio de cultivo Guillard Modificado, uma adaptação feita por Stein (1979).

A microalga *Scenedesmus sp.* também é objeto de estudo no tratamento de efluentes por meio de bioabsorção de metais. Birungi & Chirwa (2015) estudaram a aplicação de *Scenedesmus sp.* e *Chlorella vulgaris* na remoção de metais tóxicos e, a partir do estudo, constataram uma eficiência de remoção de 100% para concentrações abaixo de 150 mg L⁻¹. Oliveira et al. (2019) estudaram o potencial de *Scenedesmus sp* na biorremediação de águas residuárias da indústria avícola, garantindo a eficiência de remoção superior a 97% tanto para amônia quanto para fosfato.

3.8 Aspectos toxicológicos associados à DAM

As drenagens ácidas de mineração de carvão muitas vezes são lançadas aos mananciais hídricos sem o prévio tratamento. Os aspectos mais preocupantes a respeito da DAM são os níveis elevados de sulfato, metais dissolvidos e valores de pH reduzidos. A principal preocupação ambiental é associada ao impacto negativo dos contaminantes, principalmente dos metais dissolvidos, na biodiversidade dos corpos receptores, dificultando o desenvolvimento da biota, e na qualidade da água. Os impactos ambientais associados à DAM têm extrema importância, pois, à medida que o pH é reduzido, os metais se solubilizam, podendo bioacumular nos tecidos de vários organismos, causando efeitos prejudiciais (Summers & Bonelli, 1997; Soares et al, 2008).

Para garantir a eficiência e controle dos procedimentos no tratamento da DAM, as avaliações de toxicidade tem sido um importante meio de investigação

do potencial tóxico deste efluente. O tipo de ensaio de toxicidade irá depender de cada situação, especificada pelo tipo de efeito, substância e organismo utilizado. Em geral, os organismos bioindicadores são utilizados em metodologias cujo objetivo respalda-se em testar a sua sobrevivência e, para isso, tem-se indicado o teste de toxicidade em microcrustáceos, como *Artemia sp* e *Daphnia magna* e toxicidade em plantas, como por exemplo, *Allium cepa* (Svensson *et al.*, 2005; Saurabh *et al.*, 2005).

Organismos teste como *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* e *Allium cepa* tem sido referências em estudos ecotoxicológicos da DAM. Sivula *et al* (2018) avaliou a toxicidade associada à DAM utilizando o organismo *Daphnia magna*, devido à alta sensibilidade do organismo às mudanças ambientais, principalmente em relação à toxicidade de metais e variação de acidez. Os testes de toxicidade em microcrustáceos como *Artemia sp* apresentam características que favorecem seu uso, como o grande potencial reprodutivo, fácil aquisição, boa reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados (Silva, 2002; Pelegrini *et al.* 2007). Steyn *et al* (2019) realizaram estudos para avaliar a eficácia do tratamento de DAM usando organismos *Lactuca Sativa* e *Allium cepa*, visto que são métodos simples e rápidos para avaliar fitotoxicidade de substâncias baseado na inibição de germinação de sementes e inibição de crescimento de raiz, respectivamente. Em todos os casos, uma alta toxicidade foi encontrada na DAM não tratada. Geremias *et al.* (2012) avaliaram a efetividade do tratamento da DAM utilizando o organismo *Allium cepa* e justificaram seu uso destacando vantagens como baixo custo, alta sensibilidade, reprodutibilidade e alta produtividade. Nesse caso, um alto efeito sub crônico foi observado quando *Allium cepa* foi exposto a uma drenagem não tratada. Níveis de crescimento de raízes, biomarcadores de stress oxidativo e danos no DNA foram significativamente encontrados quando *Allium cepa* foi exposto na DAM bruta quando comparados com a DAM tratada e os controles.

Trabalhos na literatura têm relatado com sucesso o uso de plantas superiores como um ensaio sensível, de boa reprodutibilidade, baixo custo, necessidade de pouco volume de amostra de contaminantes, além de fornecer resposta em curto período de tempo para avaliações da contaminação dos

solos, de águas superficiais e subterrâneas de efluentes residenciais, industriais e atmosférico. A avaliação do crescimento das raízes de plantas tem se mostrado útil na detecção de fontes de poluentes, pois são os primeiros órgãos que se expõem ao contaminante (Fatima e Ahmad, 2006; Fiskesjö, 2006; Calzoni *et al*, 2007).

3.8.1. *Allium cepa* como bioindicador

Como visto, o uso de *Allium cepa* tem sido sugerido como organismo bioindicador ecotoxicológico para a análise de ambientes contaminados. Neste teste são avaliados diversos parâmetros fitotóxicos, e inibição de crescimento tecidual, podendo-se destacar a inibição de crescimento de raízes quando expostas à amostra teste (Fiskesjö 1985, Müller *et al.* 2007, Leme & Marin-Morales 2009, Alvim *et al.* 2011).

O uso de *Allium cepa* como um organismo teste para avaliar os níveis de toxicidade foi introduzido por Levan (1938), para a investigação de efeitos fitotóxicos e genotóxicos da Colchicina. Desde então, este teste vêm sendo frequentemente utilizado para a avaliação ecotoxicológica de ambientes contaminados por inúmeros tipos de contaminantes, como hidrocarbonetos, pesticidas e metais pesados e os resultados obtidos se mostraram satisfatórios para a maioria dos estudos relatados (Richa *et al.*, 2005; Calzoni *et al.*, 2007; Caetano *et al.*, 2018; Kieling *et al.*, 2018)

Fiskesjo (1988) relata a alta sensibilidade do organismo *Allium cepa* a metais dissolvidos. O autor mostrou que a presença de metais como mercúrio, cobre, cádmio, alumínio, manganês e níquel induz efeitos microscópicos no organismo.

Dentre os pontos positivos do uso de *Allium cepa* em testes toxicológicos, destacam-se a sensibilidade, reprodutibilidade, resposta rápida, necessidade de pouco volume de amostras, facilidade de armazenar e manipular bem como, o baixo custo. Os parâmetros comumente avaliados são aspectos biométricos, como inibição de crescimento de raízes, alterações comportamentais, fisiológicas, bioquímicas entre outras (Fiskesjo, 1988; Silva, 2002).

Visto suas condições genéticas, e o teste de sensibilidade do organismo *Allium cepa* foi o alvo deste estudo. O uso desse corpo como bioindicador ganhou espaço por possuir excelentes condições, o que permite analisar os efeitos toxicológicos cromossômicos de ambientes contaminados por poluentes contendo metais devido à alta sensibilidade do teste aos sais de metais tóxicos. Seu uso também é favorecido, pois é de baixo custo, rápida resposta e alta reprodutibilidade. (Fiskesjo, 1985; Leme & Marin-Morales, 2008; Geremias, 2012). A Figura 5 exemplifica as etapas do teste ecotoxicológico com *Allium cepa*.

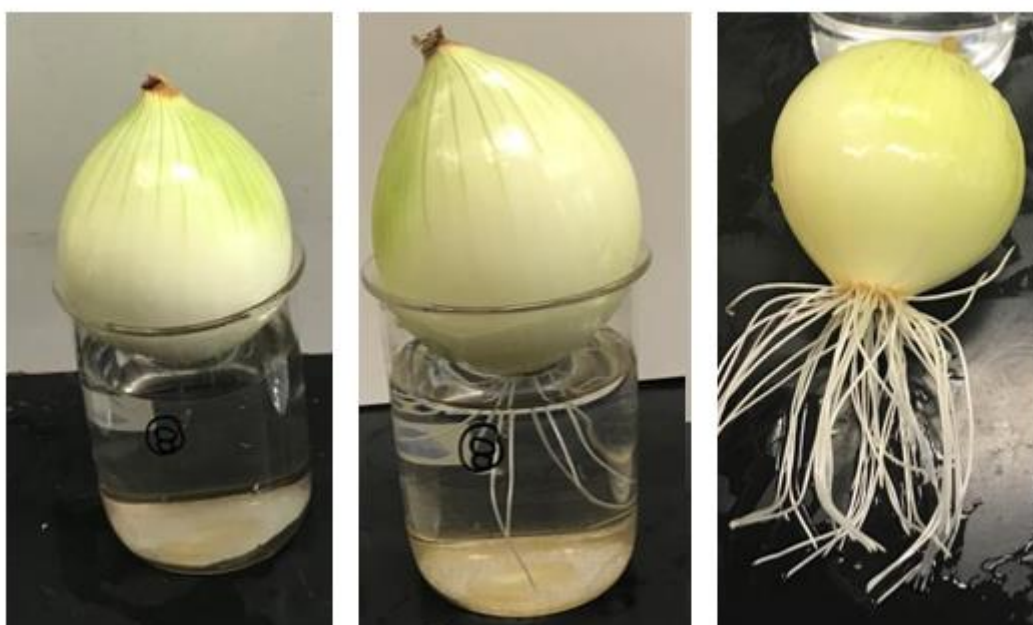


Figura 5 - Teste ecotoxicológico com *Allium cepa* realizado para a drenagem ácida de minas antes e após os tratamentos, com contato das raízes com o efluente
Fonte: Autora (2019)

3.8.2. *Daphnia magna* como bioindicador

Atualmente, a *Daphnia magna* é um dos organismos bioindicadores mais utilizados em testes ecotoxicológicos, pois reage sensivelmente a uma grande variedade de agentes tóxicos. (Alves e Silvano, 2006).

Dentre as principais vantagens em seu uso, estão a sua facilidade de manuseio, pelos seus descendentes serem geneticamente iguais, o que torna o teste mais uniforme e seguro, seu ciclo de vida, e principalmente o de

reprodução, serem curtos, e por este organismo ser sensível a vários agentes nocivos (Knie e Lopes, 2004).

Cui *et al.* (2018) analisaram a sensibilidade da *Daphnia magna* a metais pesados e confirmou que este organismo é altamente sensível a Ag, As, Cr, Fe, Ni e Pb.

A *Daphnia magna* tem larga aplicação na avaliação dos impactos causados por efluentes, e apresenta um grande número de estudos com vários poluentes. Seco *et al.* (2003) estudaram a toxicidade de resíduos sólidos contendo metais utilizando a *Daphnia magna*. Geremias (2008) utilizou o teste de toxicidade com *Daphnia magna* para avaliar a eficiência da utilização de rejeito de mineração de carvão como adsorvente para redução da acidez e remoção de íons de metais em drenagem ácida de mina de carvão. Macan *et al.* (2012) avaliaram a toxicidade de uma drenagem ácida de mina de carvão utilizando alguns organismos teste, dentre eles, a *Daphnia magna*. Na Figura 6 ilustra-se a *Daphnia magna* utilizada em testes de ecotoxicidade.



Figura 6 - Imagem microscópica de *Daphnia magna* com 24 h de idade
Fonte: Cui et al (2018)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada no presente trabalho foi embasada em uma amostra típica de drenagem ácida de minas proveniente do município de Figueira – PR. O estudo foi realizado em quatro etapas: (i) caracterização da amostra de DAM, (ii) tratamento primário através de neutralização/precipitação, (iii) tratamento secundário através de contato com microalgas da espécie *Scenedesmus sp* e (iv) ensaios de ecotoxicidade utilizando os organismos teste *Allium cepa* e *Daphnia magna*. A Figura 7 apresenta um fluxograma com a síntese da metodologia utilizada na realização deste trabalho.

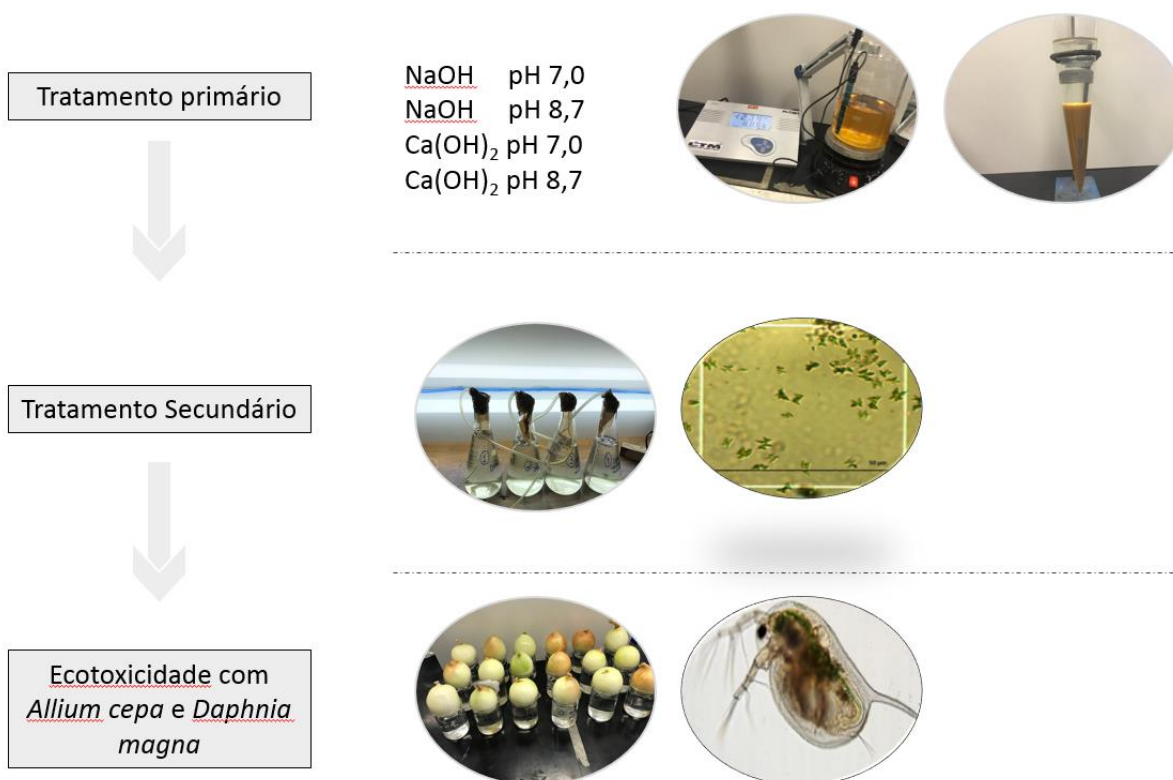


Figura 7 - Fluxograma com síntese da metodologia proposta na realização do trabalho
Fonte: Autora (2019)

4.1 Materiais

As amostras de drenagem ácida de minas, equipamentos e reagentes utilizados para o desenvolvimento deste trabalho estão descritos a seguir.

4.1.2 Amostra de Drenagem ácida de minas

A drenagem utilizada no desenvolvimento deste trabalho foi uma amostra fornecida pela empresa Carbonífera do Cambuí LTDA, situada no município de Figueira, nordeste do estado do Paraná, no domínio da Bacia Sedimentar do Paraná.

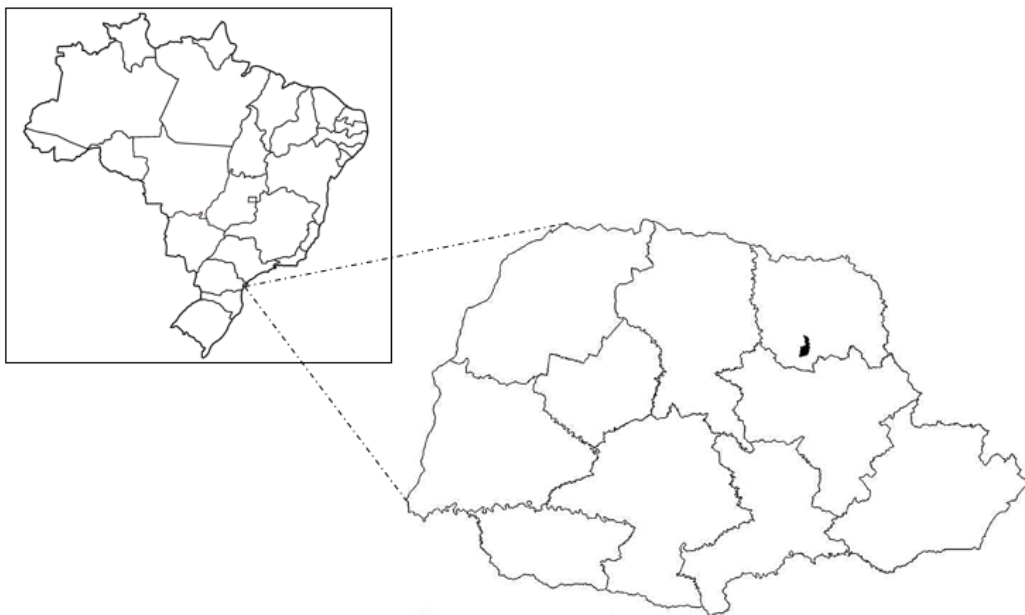


Figura 8 - Localização da área de coleta das amostras de DAM no município de Figueira-PR

Fonte: Autora (2019)

Dentre as unidades geológicas que ocorrem na área, a formação Rio Bonito destaca-se por conter camadas de carvão. A estratigrafia desta unidade constitui-se de uma porção basal arenosa; uma intermediária, que compreende siltitos e folhelhos intercalados com camadas de arenitos e leitos de rochas calcárias; e uma camada superior, constituída por arenitos intercalados com

leitos de argila e folhelhos carbonosos, onde estão localizados leitos de carvão, que são explorados economicamente (Schneider et al., 1974).

4.1.3 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para execução das análises deste trabalho estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Equipamentos utilizados no estudo experimental

Equipamento	Marca	Modelo
Agitador Magnético	SP LABOR	SP 10209/A
Balança Analítica	URANO	UA 220
Balança Digital	URANO	UR 10000 LIGHT
Câmera Digital	SONY	NEX-3
Espectrofotômetro	PRO-TOOLS	UV – 1100
Estufa	MARCONI	MA037
ICP-OES	SPECTRO ANALYTICAL INSTRUMENTS	SPECTRO CIROS CCD
Mesa Agitadora	NOVA TÉCNICA	NT 145
pH-metro	AKSO	86505
Osmose Reversa	MAC CLEAN	90APGE BUBE
Bombas de ar	AQUALIFE	SUNSUN
Microscópio	BEL PHOTONICS	BIO3 SERIES
Turbidímetro	DIGIMED	DM-TU

Fonte: Autora (2019)

4.1.4 Água e Reagentes

Água utilizada no preparo de soluções e meios de cultura foi água de abastecimento público tratada por osmose reversa;

Os reagentes utilizados para a realização dos experimentos estão apresentados na Tabela 8. Todos os reagentes foram de grau analítico.

Tabela 8 - Reagentes empregados no estudo experimental	
Reagente	Marca
Hidróxido de sódio	GUAPO
Hidróxido de cálcio	MONTEDISON FARMACÊUTICA
Cloreto de magnésio	CARLO ELBA
Acetato De sódio	SYNTH
Nitrato de potássio	DINÂMICA
Cloreto de cálcio	MERCH
Sulfato de Magnésio	VETEC
Fosfato de Potássio	ANIDROL
Nitrato de Sódio	NEON
Silicato de sódio	REAGEN
Etilenodiaminatetraacetato de sódio	VETEC
Cloreto de Ferro	NEON
Sulfato de Cobre	ANIDROL
Sulfato de Zinco	ANIDROL
Cloreto de Cobalto	NEON
Molibdato de sódio	NEON
Padrão de pH 4.00 @25°	AKSO
Padrão de pH 7.00 @25°	AKSO
Padrão de pH 10.01 @25°	AKSO

Fonte: Autora (2019)

4.2 Métodos

A seguir serão descritos os procedimentos adotados para a realização da caracterização da drenagem, experimentos de tratamento por meio do método da precipitação/neutralização, procedimentos analíticos químicos e ecotoxicológicos apresentados nesta pesquisa.

4.2.1. Caracterização da DAM

A DAM empregada no presente trabalho foi inicialmente analisada em relação ao pH, condutividade e teor de metais e sulfatos. Os metais analisados foram Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As.

Nesta etapa também foi conduzida a titulação potenciométrica com os reagentes escolhidos para o tratamento, Na(OH) e Ca(OH)₂.

4.2.2. Tratamento Químico da DAM

Foram realizados ensaios em escala de bancada baseado no método de neutralização/precipitação. Empregou-se dois tipos de agentes alcalinizantes (Ca(OH)₂ e NaOH) em solução com concentração de 100 g L⁻¹ (10% m/v) para o tratamento de amostras de 1L de DAM. Foram avaliadas as seguintes condições de tratamento: Ca(OH)₂ a pH 7,0, Ca(OH)₂ a pH 8,7, NaOH a pH 7,0 e NaOH a pH 8,7, conforme descrito na Tabela 9.

Tabela 9 - Descrição dos reagentes e condições de tratamento empregadas no presente estudo

	Tratamento	pH
1	NaOH	7,0
2	NaOH	8,7
3	Ca(OH) ₂	7,0
4	Ca(OH) ₂	8,7

Após a neutralização, transferiu-se a mistura para um cone de Imhoff para determinação do volume de lodo sedimentado. Após 1 hora de sedimentação, o efluente clarificado foi separado do lodo através de filtração simples empregando um papel filtro qualitativo 80g. O lodo gerado foi secado a 60°C para determinação de massa de lodo gerada.

Da mesma forma que a análise da drenagem ácida de minas bruta, o clarificado de cada tratamento foram analisadas em relação ao pH, condutividade e teor de metais e sulfatos. Os metais analisados foram Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As. Também foram realizadas análises ecotoxicológicas com *Allium cepa* e *Daphnia magna*.

4.2.3 Tratamento por Biossorção com Microalgas

Dentre os tratamentos propostos anteriormente, foi selecionado o que obteve melhor resultado em relação a remoção do teor de metais e sulfatos

para um polimento com ênfase na remoção de manganês e arsênio remanescente, utilizando microalgas da espécie *Scenedesmus sp.*

O meio empregado para a preparação dos inóculos foi o meio Guillard Modificado (Stein, 1979). Este meio é preparado pela adição de 4,75 mL da solução de micronutrientes e 4,75 mL da solução de macronutrientes, conforme Tabela 10, e água deionizada até completar o volume de 500 mL. Os inóculos foram preparados em Erlenmeyers e os novos inóculos foram produzidos utilizando 50 mL de outro frasco de crescimento após os 10 dias de incubação. Esse tempo foi estabelecido em função do estudo de Ramirez (2013), que obteve o tempo de 10 dias como pico populacional ativo da cultura.

Tabela 10 - Composição do Meio Guillard modificado
Macronutrientes (g L⁻¹)

CaCl ₂ .2H ₂ O	36,76
MgSO ₄ .7H ₂ O	36,97
NaHCO ₃	12,6
K ₂ HPO ₄	8,71
NaNO ₃	85,01
Na ₂ SiO ₃ .7H ₂ O	28,42
Micronutrientes (g L ⁻¹)	
Na ₂ EDTA	4,36
FeCl ₃ .6H ₂ O	3,15
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,022
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,01
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,18
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,006

Fonte: Stein (1979)

Para o polimento utilizando a microalga *Scenedesmus sp.*, as microalgas foram adicionadas em amostras de drenagem neutralizada com Ca(OH)₂ em pH 8,7 em inóculos de 5 mL. Nas seguintes situações:

- em água destilada (controle) – 5 mL de inóculo e 495 mL de água destilada;

- na DAM tratada sem nutrientes – 5 mL de inóculo e 495 mL de DAM tratada;

- na DAM tratada com nutrientes – 5 mL de inóculo, 0,475 mL de nutrientes (solução macronutrientes da Tabela 10) e 494,25 mL de DAM tratada;

- no Meio Guillard – 5 mL de inóculo e 495 mL de Meio Guillard.

Toda a vidraria e soluções para cultivo de microalgas foi esterilizada utilizando uma autoclave, utilizando o seguinte protocolo: 15 minutos sob 120°C de temperatura, com pressão de 1,45 atm.

Os cultivos foram incubados numa câmara com um sistema de iluminação e aeração, vedada com cortina *black out*, que evitam a entrada de luz (Figura 9) com um fotoperíodo de 12 horas. A fim de que todos os frascos recebessem a mesma intensidade de luz, foram posicionados cuidadosamente. Os meios foram incubados com aeração mecânica, fazendo uso de bombas de ar que borbulhavam ar atmosférico nos cultivos. Bombas de ar para aquarismo foram instaladas para borbulhar o ar.



Figura 9 - Cultivo de microalgas *Scenedesmus* sp na drenagem neutralizada
Fonte: Autora (2019)

O crescimento das microalgas nos cultivos foi acompanhado através do monitoramento diário via espectrofotometria, no comprimento de onda de 570 nm, por meio de acompanhamento diário da variação da absorbância nos cultivos. A Equação 8 correlaciona absorbância e biomassa de microalgas em g L^{-1} :

$$Ms = 0,967 * Abs \quad \text{Equação 8}$$

Onde, Ms é a massa seca de microalgas em g L^{-1} e Abs é a absorbância na faixa de 570 nm obtida via espectrofotometria.

Por fim, após passados os 10 dias de crescimento das microalgas, a biomassa foi separada via filtração e uma alíquota do efluente tratado analisado.

As análises realizadas foram as mesmas que as conduzidas na amostra bruta de drenagem ácida de minas e nos clarificados de cada tratamento químico: pH, condutividade e teor de metais e sulfatos e efeitos tóxicos em *Allium cepa* e *Daphnia magna*.

4.3. Análises

4.3.1. Análises químicas

O pH da amostra de DAM foi determinado com um pHmetro empregando padrões de pH 4,0, 7,0 e 10,01. A condutividade foi determinada utilizando o mesmo pHmetro. A concentração de sulfatos foi determinada utilizando o método turbidimétrico, conforme Método 426 C do Standard Methods (APHA, 1980). Essas análises foram realizadas Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (LTM) da UFRGS

A amostra foi analisada também para teores de Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As por Espectrofotômetro de Emissão Óptica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

4.3.2 Análise de toxicidade com *Allium cepa*

Os ensaios de ecotoxicidade foram realizados no Laboratório de Teconologia Mineral e Ambiental (LTM) de acordo com o método desenvolvido por Fiskesjö (1985). O parâmetro analiado foi o comprimento da raiz de *Allium cepa*, que é o parâmetro macroscópico mais importante para detectar a toxicidade do efluente.

Os experimentos foram conduzidos utilizando pequenos bulbos de *Allium cepa* livres de doença e medindo entre 25 e 30 mm de mesma procedência. Antes do ensaio, as camadas externas e as raízes foram removidas, atentando-se para manter o anel radicular primordial intacto, uma vez que é de onde emergem as novas raízes. Após a raspagem superficial do bulbo, foram colocados na extremidade aberta dos recipientes (Bequer de 250 mL) contendo as soluções. A água da torneira foi usada como controle negativo (0% DAM).

Os bulbos de *Allium cepa* foram colocados diretamente em contato com as soluções controle, drenagem bruta e tratamentos de acordo com Fiskesjö (1985), sem estágio prévio de crescimento da raiz na água. Os béqueres contendo as soluções e os bulbos foram alocados a temperatura próxima a 20°C e protegidos da luz solar. Os parâmetros macroscópicos analisados foram o comprimento médio das raízes e a massa de raízes produzida. Na Figura 10 pode-se observar alguns bulbos de *Allium cepa* em contato com soluções controle e de drenagem antes e depois dos tratamentos.

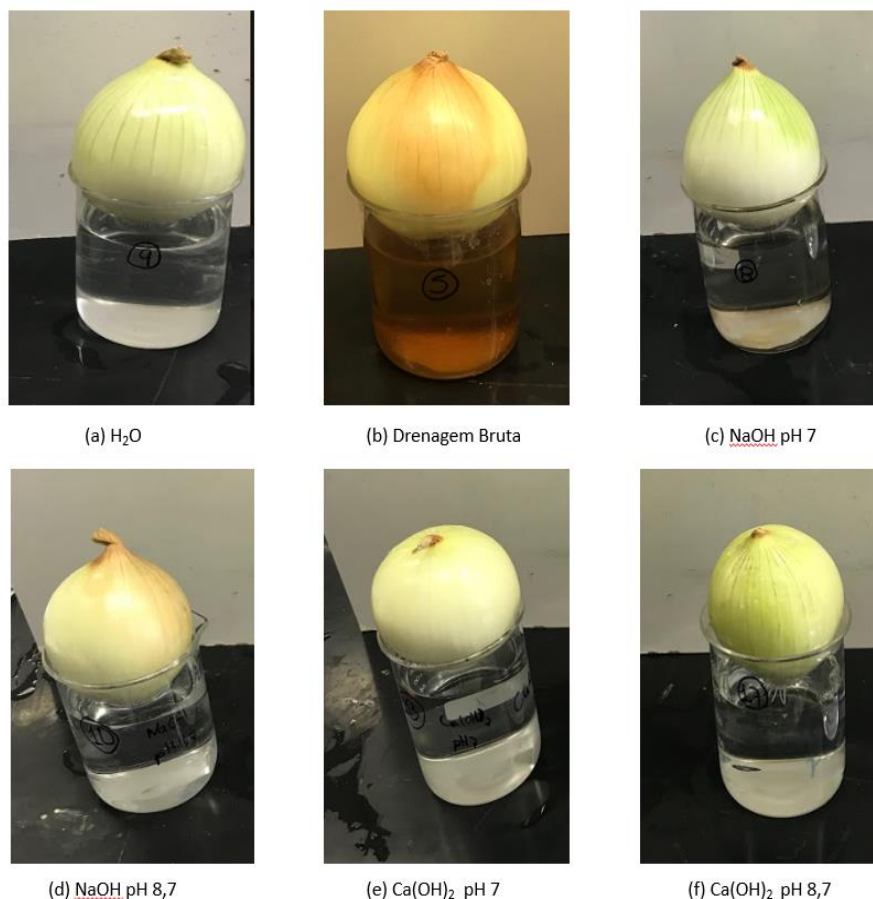


Figura 10 - Bulbos de *Allium cepa* em contato com as soluções: (a) H₂O (b) Drenagem bruta (c) Tratamento com NaOH em pH 7,0 (d) Tratamento com NaOH em pH 8,7 (e) Tratamento com Ca(OH)₂ em pH 7,0 (f) Tratamento com Ca(OH)₂ em pH 8,7
Fonte: Autora (2019)

No final do período experimental, as cinco raízes mais longas emergindo dos bulbos de *Allium cepa* foram medidas usando uma régua e os comprimentos foram expressos em centímetros. O índice de crescimento relativo - *ICR* (Equação 5), o índice de inibição - *II* (Equação 6) e o índice de germinação (Equação 7) foram calculados e comparados com os valores obtidos para plantas controle (água da torneira).

$$ICR = \frac{Lm}{Lc} \quad \text{Equação 5}$$

$$II = \left(1 - \frac{Lm}{L_0}\right) \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

$$GI = \frac{G}{G_0} \times ICR \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

Onde L_m é o comprimento médio das raízes nas amostras, L_c é o comprimento médio das raízes no controle e % G é o percentual de germinação comparado com o controle.

A inibição de crescimento foi avaliada utilizando o indicador EC50, que se refere a concentração de DAM que causa 50% do efeito de inibição do crescimento em raízes ($li > 50\%$) (Fiskesjö, 1985).

4.3.3. Análise de toxicidade com *Daphnia magna*

Os testes de toxicidade aguda para o microcrustáceo *Daphnia magna* foram realizados no laboratório da empresa Bioensaios na cidade de Viamão, conforme o Guideline for Testing of Chemicals (OECD, 2004 - *Revised proposal for updating Guideline method 202, Daphnia sp. Acute immobilisation Test*).

Esse teste avalia os efeitos tóxicos imediatos de uma amostra sobre a mobilidade desta espécie de microcrustáceo e é baseado na exposição dos organismos a uma série de diluições da amostra e tem duração de 48 horas. O efeito sobre os organismos é expresso pela perda de mobilidade. O resultado é calculado por procedimento estatístico e representado pela concentração de efeito a 50% da população (CE-50 – 48 h).

O valor inverso da maior concentração teste que não causa efeito nenhum sobre os organismos testados é chamado fator de toxicidade ou diluição (FT – 48 h) e representa a diluição que a amostra precisa sofrer para deixar de causar efeitos tóxicos agudos. Segundo a norma, os resultados obtidos através do CE-50 podem ser traduzidos da seguinte maneira: CE-50 < 25 % - extremamente tóxica, CE-50 25-50 % - altamente tóxica, CE50 50-65 % - medianamente tóxica, CE-50 > 65% - pouco tóxica.

4.4. Repetições e apresentação de resultados estatísticos

Os ensaios realizados em todas as etapas deste estudo foram conduzidos em triplicada e os resultados foram representados em termos de valor médio. As análises foram submetidas à análise de variância (ANOVA) para avaliar se

há diferenças significativas entre as médias para um nível de significância de 0,05 (95% de confiabilidade). Os cálculos, bem como a construção dos gráficos, foram realizados com auxílio do Software Aplicativo Microsoft Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente capítulo apresenta os resultados em relação à caracterização da amostra, estudos de tratamento do efluente, análises químicas e testes de toxicidade.

5.1 Caracterização do efluente

Parâmetros químicos da DAM bruta empregada neste estudo em termos de pH, condutividade, sulfatos e os metais ferro, alumínio, manganês, zinco, cobre, chumbo e arsênio estão compilados na Tabela 11. Com esses resultados, foi realizada uma comparação com a legislação ambiental vigente, CONAMA 430/2011, que mostra a real necessidade de tratamento deste efluente. Além do pH, que se encontra fora do intervalo de emissão, as concentração de Zn, Fe, Mn e AS estão acima do limite estabelecido.

Tabela 11 – Caracterização da DAM bruta empregada neste estudo.

	Média	σ	CONAMA 430
pH	2,33	0,15	5-9
Cu (mg L ⁻¹)	nd	-	1
Zn (mg L ⁻¹)	62,65	0,55	5
Fe (mg L ⁻¹)	611,38	5,11	15
Mn (mg L ⁻¹)	37,98	0,36	1
Pb (mg L ⁻¹)	0,41	0,02	0,5
Al (mg L ⁻¹)	269,37	11,67	-
As (mg L ⁻¹)	0,85	0,05	0,1
SO ₄ (mg L ⁻¹)	7410,40	36,94	-
Condutividade (mS)	7,79	0,02	-

nd: não detectado

O pH da amostra foi medido em 2,3. O ferro e alumínio são os elementos majoritários, com concentrações de 611,4 mg L⁻¹ e 269,4 mg L⁻¹, respectivamente. O zinco e manganês possuem uma contribuição significativa, com uma concentração de 62,6 mg L⁻¹ e 38,0 mg L⁻¹. Os outros metais presentes, mesmo que em menores concentrações, são chumbo e o arsênio. Em termos de contribuição mássica de metais, ocorre a seguinte distribuição

entre os metais analisados: Cu (0%), Zn (6,4%), Fe (62,5%), Mn (3,9%), Pb (0,05%), Al (27,1%) e As (0,1%). Apesar dos metais Pb e As estarem em menores proporções, suas presenças não podem ser ignoradas, uma vez que estes metais representam riscos à saúde e ao meio ambiente e, portanto, devem ser removidos da DAM até os limites máximos permitidos pela Resolução CONAMA 430/2011 para descarte em corpos hídricos como um efluente industrial.

Ainda, o efluente apresenta uma alta concentração de íons sulfato, analisada em $7410,4 \text{ mg L}^{-1}$. O alto teor de sulfatos da amostra, bem como o baixo pH (que expressa os íons de hidrogênio livres (H^+), estão relacionados à concentração de ácido sulfúrico naturalmente formado no processo de oxidação da pirita (Gaikwad e Gupta, 2008).

Ainda nesta etapa de caracterização, antes de realização dos estudos de neutralização/precipitação, conduziu-se a titulação potenciométrica do efluente com os reagentes NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ilustradas nas Figuras 11 e 12.

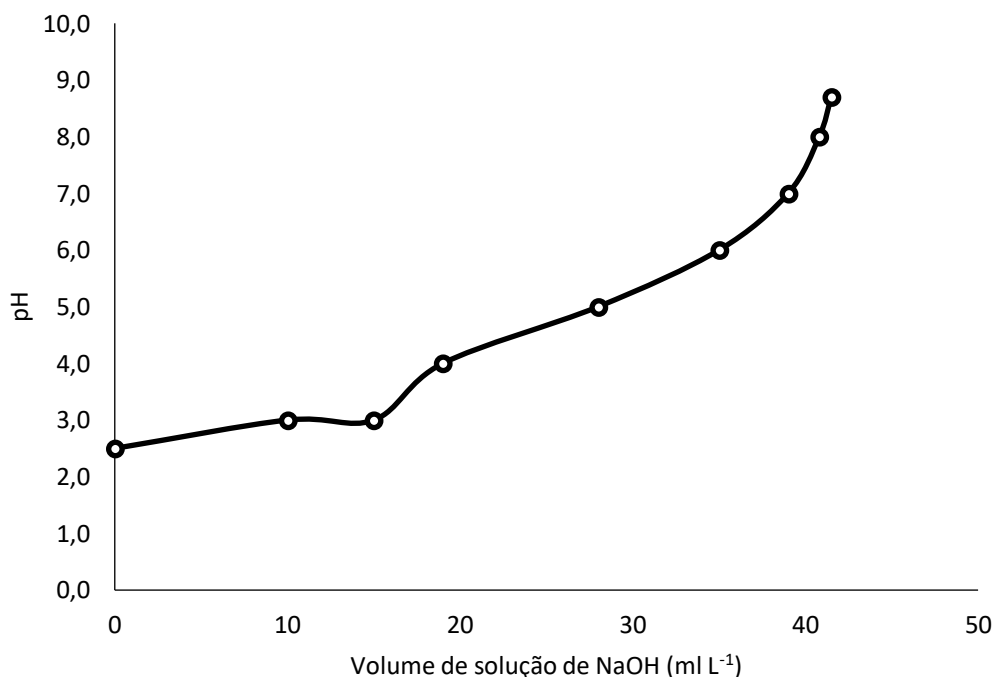


Figura 11- Curva de titulação potenciométrica da DAM utilizando o reagente NaOH em solução 10% (m/v)

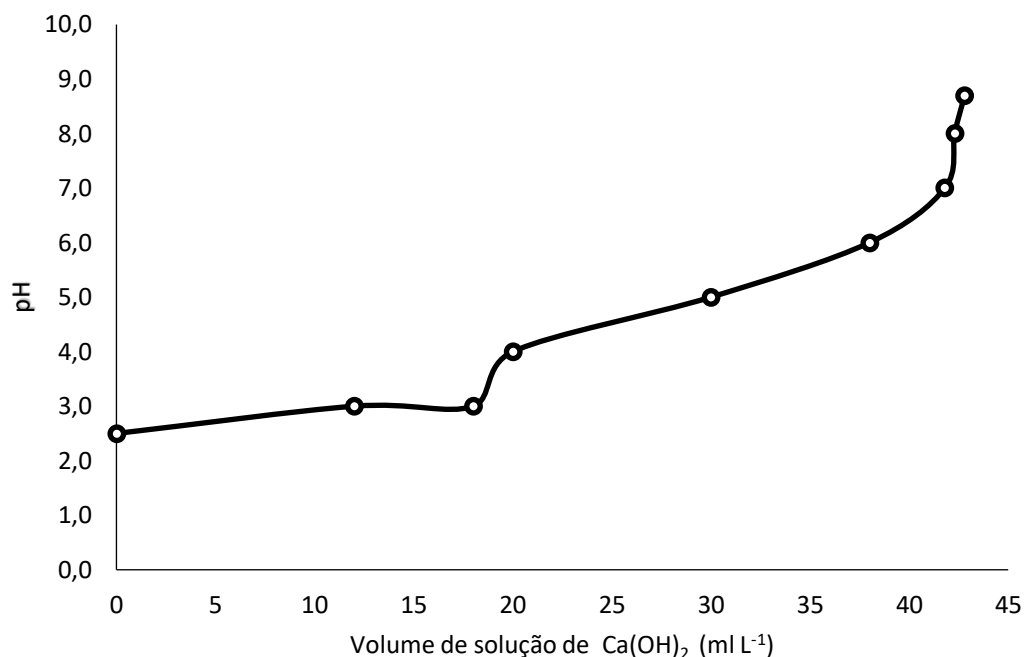


Figura 12 – Curva de titulação potenciométrica da DAM utilizando o reagente Ca(OH)₂ em solução 10% (m/v)

É possível observar que, no início da titulação, a elevação do pH ocorre de forma lenta e constante, pois nesta zona o consumo da base está relacionado à neutralização dos íons de hidrogênio livres (H⁺) e também formação dos hidróxidos de ferro. Esta etapa ocorre até aproximadamente o pH 3,0. A seguir ocorre uma zona em que, ao passo que é adicionada a base, há um aumento significativo do pH, decorrente somente da neutralização dos íons de H⁺ livres. A partir do pH 4,5 verifica-se novamente um maior consumo da base, devido a formação dos hidróxidos de alumínio e outros metais. Esse processo segue até pH 7,0 (Silva, 2010). A partir de pH 7,0, o valor sobe rapidamente, indicando a baixa concentração de íons H⁺ e de íons metálicos hidrolisáveis. Esse comportamento ocorreu para ambos reagentes, NaOH e Ca(OH)₂, e foi similar a uma titulação potenciométrica conduzida por Menezes et al (2009) com uma solução 4 M de NaOH.

5.2. Tratamento da DAM por neutralização/precipitação

Após a caracterização do efluente, foram escolhidos dois valores de pH para o tratamento por precipitação dos metais: pH $7,0 \pm 0,1$ e pH $8,7 \pm 0,1$. Em pH 7,0, por não haver de forma perceptível metais consumindo íons hidroxila e em pH $8,7 \pm 0,1$, caso seja necessário remover uma maior remoção de íons manganês.

Um dos produtos derivados do tratamento da DAM, quer em sistemas ativos bem como em sistemas passivos, é o lodo, sendo a geração de lodo uma das principais desvantagens do uso do tratamento por neutralização/precipitação. Trata-se de um material composto por íons metálicos precipitados, rico em metais como ferro, alumínio e manganês, que posteriormente deverão ser dispostos de maneira adequada.

Na Tabela 12 estão listados os valores de volume e massa do lodo gerados no processo de tratamento com cada um dos reagentes nos dois valores de pH escolhidos.

Tabela 12 – Volume e massa de lodo sedimentado no Cone de Imhoff no tratamento por neutralização/precipitação de DAM com NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nos valores de pH 7,0 e 8,7 (n = 3).

Reagente	pH	Volume do lodo sedimentado (mL L^{-1})		Massa do lodo sedimentado (g L^{-1})	
		Média	σ	Média	σ
1 NaOH	7,0	657,00	29,51	7,81	0,61
2 NaOH	8,7	770,00	11,53	7,31	0,19
3 $\text{Ca}(\text{OH})_2$	7,0	373,33	18,93	9,27	0,16
4 $\text{Ca}(\text{OH})_2$	8,7	448,33	10,41	10,99	0,22

De posse da Tabela 12, foi possível fazer uma avaliação da quantidade de lodo produzida em função do tratamento escolhido. Pode-se observar que, o uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ gera uma maior massa de lodo do que com o uso de NaOH, contudo esse lodo é mais coeso e o volume ocupado no Cone de Imhoff é menor após 1 hora de sedimentação. Essa redução de volume chegou a aproximadamente a 50% com o reagente $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em relação ao NaOH. Considerando a variável pH, a massa e o volume de lodo foram parecidos com o uso do NaOH e um pouco maior em pH 8,7 do que 7,0 quando se empregou $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

A Figura 13 mostra o volume sedimentado após 1 hora no Cone de Imhoff, período de tempo após o qual o efluente foi filtrado para separação do lodo produzido e análise da água tratada.



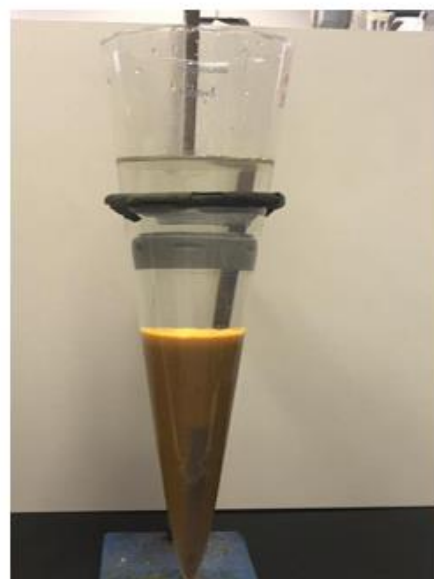
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 13 - Volume de lodo sedimentado após o tratamento com (a) NaOH em pH 7,0 (b) NaOH em pH 8,7 (c) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 7,0 (d) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7
Fonte: Autora (2019)

A análise do clarificado nas condições de tratamento estudadas, assim como os padrões legais de emissão previstos na resolução CONAMA 430/2011, estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Análise química da DAM bruta e dos efluentes tratados com o procedimentos de neutralização/precipitação de DAM empregando os reagentes NaOH e Ca(OH)₂ nos valores de pH 7,0 e 8,7 (n = 3).

	DAM bruta		Tratamento Convencional								CONAMA 430
			NaOH				Ca(OH) ₂				
	Média	σ	pH 7,0		pH 8,7		pH 7,0		pH 8,7		
		Média	σ	Média	σ	Média	σ	Média	σ		
pH	2,33	0,15	7,00	0,00	8,70	0,00	7,00	0,00	8,70	0,00	5 - 9
Cu (mg L ⁻¹)	nd		nd		nd		nd		nd		1
Zn (mg L ⁻¹)	62,65	0,55	0,25	0,19	0,07	0,04	0,11	0,07	0,10	0,10	5
Fe (mg L ⁻¹)	611,38	5,11	9,48	8,21	1,71	0,20	4,90	0,85	0,90	0,02	15
Mn (mg L ⁻¹)	37,98	0,36	15,88	1,44	5,33	2,42	8,72	1,40	1,54	0,40	1
Pb (mg L ⁻¹)	0,41	0,02	0,12	0,02	0,11	0,03	0,09	0,10	0,15	0,05	0,5
Al (mg L ⁻¹)	269,37	11,67	0,06	0,05	0,14	0,01	0,00	0,00	0,08	0,08	-
As (mg L ⁻¹)	0,85	0,05	0,39	0,25	0,39	0,13	0,38	0,29	0,30	0,31	0,1
SO ₄ (mg L ⁻¹)	7410,4	36,94	6441,6	97,37	5973,6	45,34	3124,3	21,55	2727,6	19,49	-
Condutividade (mS)	7,79	0,02	9,99	0,11	10,10	0,31	5,15	0,08	5,28	0,07	-

nd: não detectado

A amostra de DAM utilizada apresentava inicialmente pH 2,3 e era rica em metais dissolvidos, tais como ferro, alumínio e manganês, assim como em sulfatos. Pode-se observar que, de modo geral, todos os tratamentos permitiram a remoção dos metais, com alguns detalhes que serão seguir detalhados.

A remoção de ferro, para ambos os reagentes, foi maior em pH 8,7, indicando que parte do ferro presente encontrava-se na forma Fe²⁺; pois o ferro na forma bivalente só é eficientemente reduzida com o aumento do pH acima de 8,5. O alumínio, por sua vez, manteve-se em concentrações bastante baixas nas duas faixas de pH estudadas com ambos os agentes alcalinizantes bem como o zinco e chumbo. Esses quatro elementos, juntamente com o cobre, enquadraram-se, em todas as condições estudadas, nos limites de emissão previstos na Resolução Conama 430/2011.

Contudo, utilizando a técnica de precipitação, não foi possível baixar a concentração de manganês e arsênio aos limites máximos permitidos de lançamentos estipulados pela Resolução. No caso de manganês, realmente houve uma maior redução em pH 8,7 do que em pH7,0, mas ainda não

suficiente para atender o padrão de emissão. No caso arsênio, em todas as condições ficou um pouco acima do limite estabelecido.

Todos os valores numéricos encontram-se na Tabela 13. Porém, para melhor visualização dos resultados, a Figura 14 apresenta os valores médios de eficiência de remoção de manganês, chumbo e arsênio em todas as condições de reagentes e pH estabelecidas. A Figura 15, por sua vez, apresenta os valores residuais do somatório dos metais analisados. Pode-se verificar que o ajuste do pH para 8,7 com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ foi a condição que permitiu a maior remoção considerando a soma dos metais. Todos esses resultados estão de acordo com o esperado em termos de química de drenagem ácida de minas (Skousen et al., 1996; Kontopoulos, 1998).

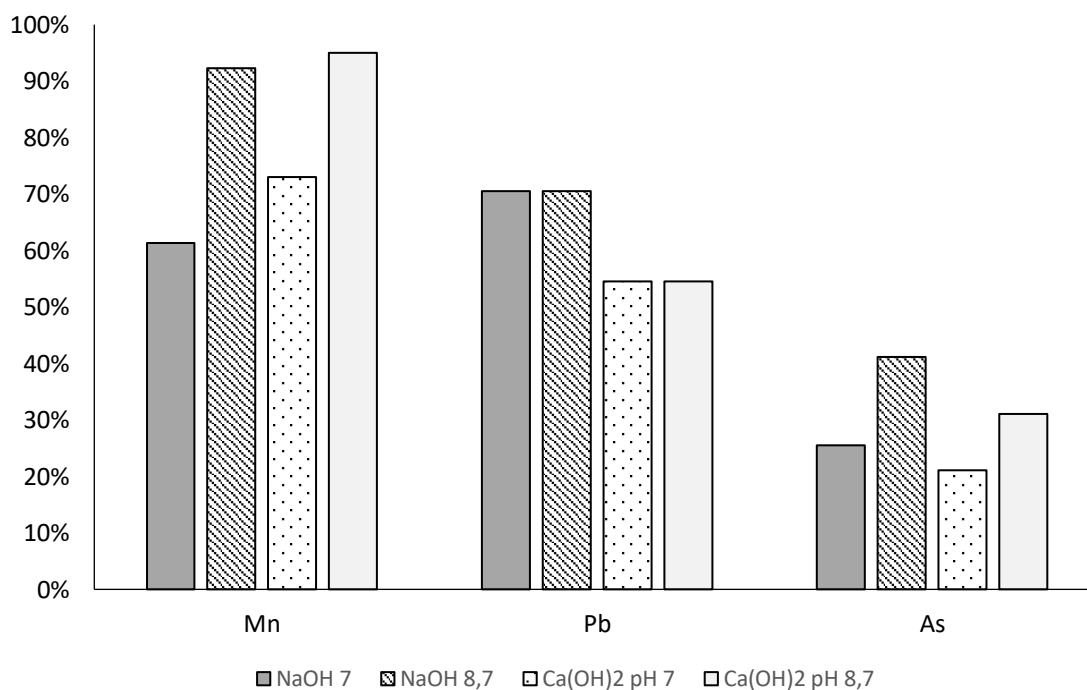


Figura 14 – Eficiência de remoção dos metais Mn, Pb e As com o uso dos reagentes NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 7,0 e 8,7. Fonte: Autora (2019)

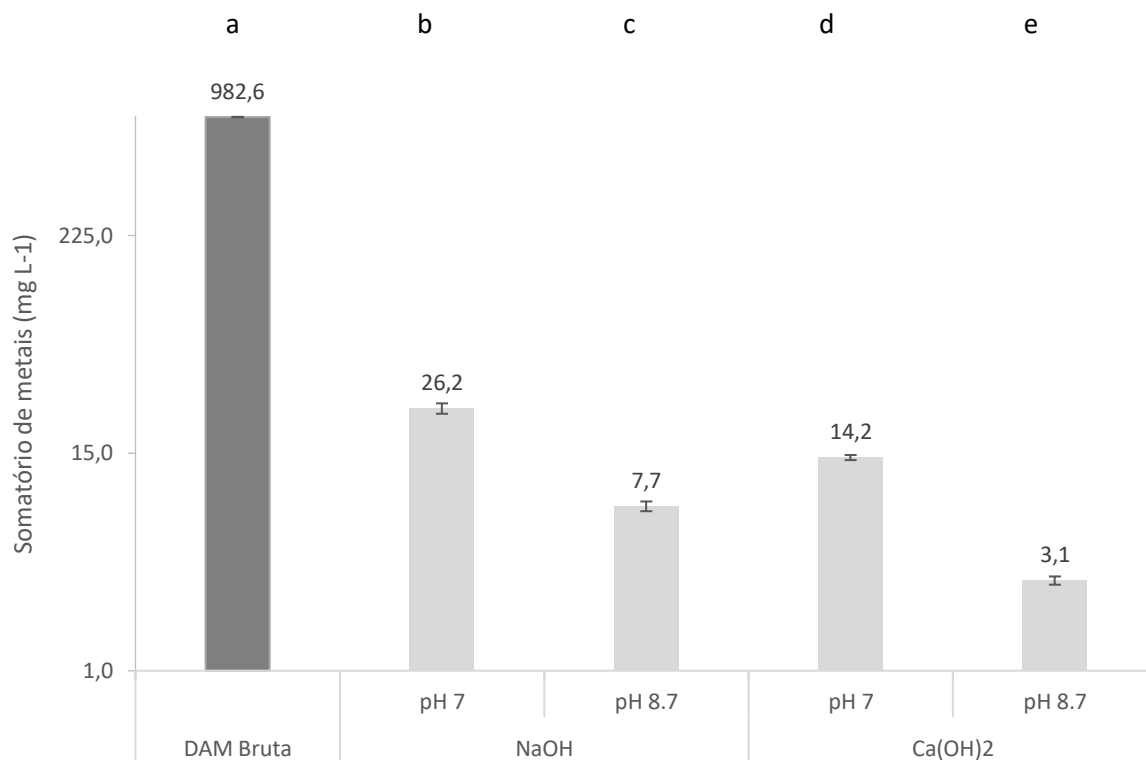


Figura 15 - Soma dos teores de metais (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As) para Drenagem bruta e tratamentos com o uso dos reagentes NaOH e Ca(OH)₂ em pH 7,0 e 8,7.

Fonte: Autora (2019)

Por fim, a respeito da concentração de sulfatos, observa-se que o emprego de Ca(OH)₂ permitiu uma maior remoção de sulfatos. Os valores de redução com NaOH foram de aproximadamente 20%, enquanto que com o uso de Ca(OH)₂ os valores se aproximaram de 60%. Essa maior remoção é devido a precipitação dos íons sulfatos com CaSO₄.2H₂O (gipsita), um sal parcialmente solúvel em água (Skousen, 1996).

A Figura 16 mostra as concentrações de sulfato na drenagem ácida bruta e nos respectivos tratamentos com os reagentes NaOH e Ca(OH)₂. É possível observar que a concentração do efluente sem tratamento possui um valor médio de 7410,4 mg L⁻¹, passando para 6441,6 e 5973,6 mg L⁻¹ ao realizar o tratamento com NaOH com pH 7,0 e 8,7, respectivamente. Ao realizar o tratamento com o Ca(OH)₂ percebe-se uma maior tendência de diminuição da concentração de sulfato, ficando com um valor médio de 3124,3 e 2727,6 mg L⁻¹ ao elevar ao pH de 7,0 e 8,7, respectivamente. Pode-se observar, que em

todos os casos há uma diferença significativa das médias para um nível de confiança estatístico de 95%.

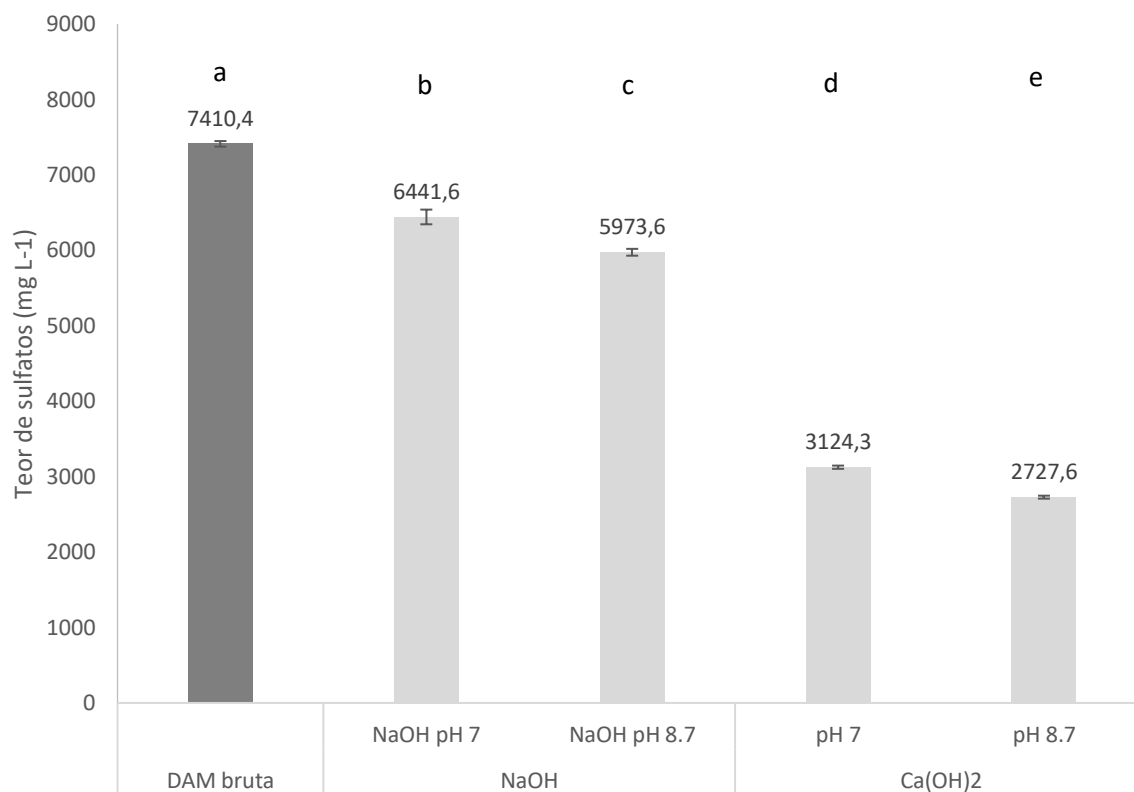


Figura 16 – Concentração de sulfatos total na DAM bruta e nos efluentes com o uso dos reagentes NaOH e Ca(OH)₂ em pH 7,0 e 8,7. Fonte: Autora (2019).

Assim, definiu-se que a melhor condição de tratamento seria com o uso hidróxido de cálcio em pH 8,7. Os fatores levados em consideração para esta escolha foram: (i) o Ca(OH)₂ é o reagente usualmente empregado nas estações de tratamento de DAM, (ii) os custos deste reagente são inferiores ao NaOH, (iii) houve uma remoção maior de metais, incluindo o manganês e o arsênio e (iv) houve uma maior remoção na concentração de íons sulfato.

5.3 Tratamento secundário por bioadsorção com microalgas

O tratamento por meio de neutralização/precipitação definido como o mais adequado nas condições propostas com o base Ca(OH)₂ no pH 8,7. Porém, apesar da expressiva diminuição na concentração de metais e sulfatos, os

metais manganês e arsênio permaneceram fora dos limites previstos na CONAMA 430/2011. Desta forma, decidiu-se fazer um tratamento secundário para a melhoria da qualidade do efluente por meio de um sistema de polimento com microalgas “In vivo”.

O crescimento das microalgas foi acompanhado através do monitoramento diário via espectrofotometria. As medidas em cada condição foram realizadas em triplicata. A variação da média da absorbância nos meios de cultivo, na faixa de 570 nm, para um período de 10 dias de cultivo é mostrada na Figura 17.

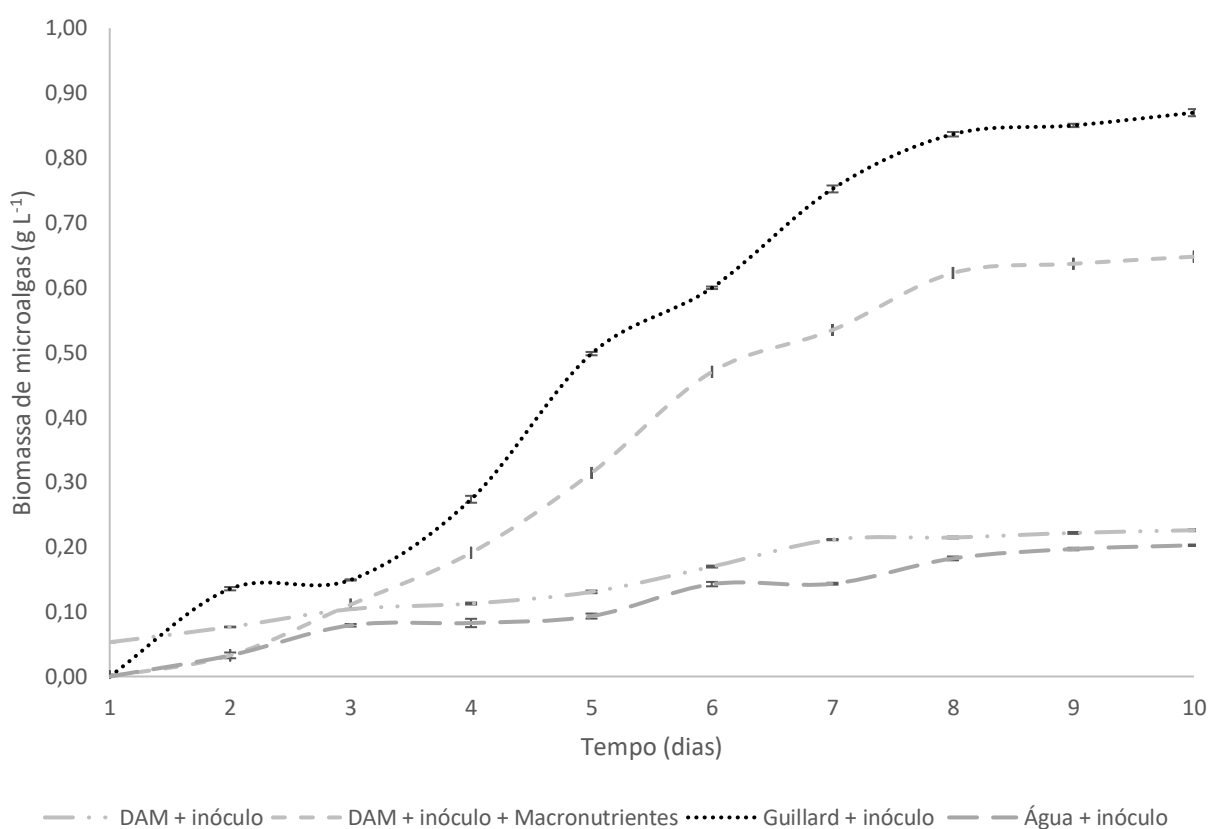


Figura 17- Crescimento de microalgas em função do tempo na DAM tratada com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7, na DAM tratada com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7 com macronutrientes, em Meio Guillard e em água purificada por osmose reversa.

Fonte: Autora (2019)

Ao final de dez dias de crescimento, obteve-se $0,88 \text{ g L}^{-1}$ na água do meio Guillard Modificado, $0,65 \text{ g L}^{-1}$ de biomassa na DAM tratada com adição macronutrientes, $0,23 \text{ g L}^{-1}$ de biomassa na drenagem neutralizada sem adição de macronutrientes e $0,20 \text{ g L}^{-1}$ na água destilada. O crescimento das algas na DAM com macronutrientes obteve sucesso, chegando a valores relativamente

próximos (3/4) dos obtidos em um meio de cultura ideal, no caso o meio Guillard. Contudo, a adição de macronutrientes é importante para o bom desenvolvimento das algas na DAM.

Para fins comparativos do crescimento de microalgas, Ramirez (2013) elaborou um estudo acerca do crescimento de *Scenedesmus sp* em vinhaça, e, no período de 10 dias, obteve um crescimento de $0,46 \text{ g L}^{-1}$. Oliveira (2013) avaliou o crescimento de *Scenedesmus sp* em meio de cultura industrial e em meio de cultura alternativo composto por 10%, 15% e 20% de um efluente de bovinocultura biodigerido, onde em 10 dias obteve uma produção de $0,76 \text{ g L}^{-1}$ com o meio de cultivo sintético e os meios de cultivos formulados a partir do efluente de bovinocultura biodigerido apresentaram a mesma eficiência na produção de biomassa seca de microalgas em comparação ao meio de cultivo sintético.

A Figura 18 mostra a evolução da intensidade de cor de cada tratamento.

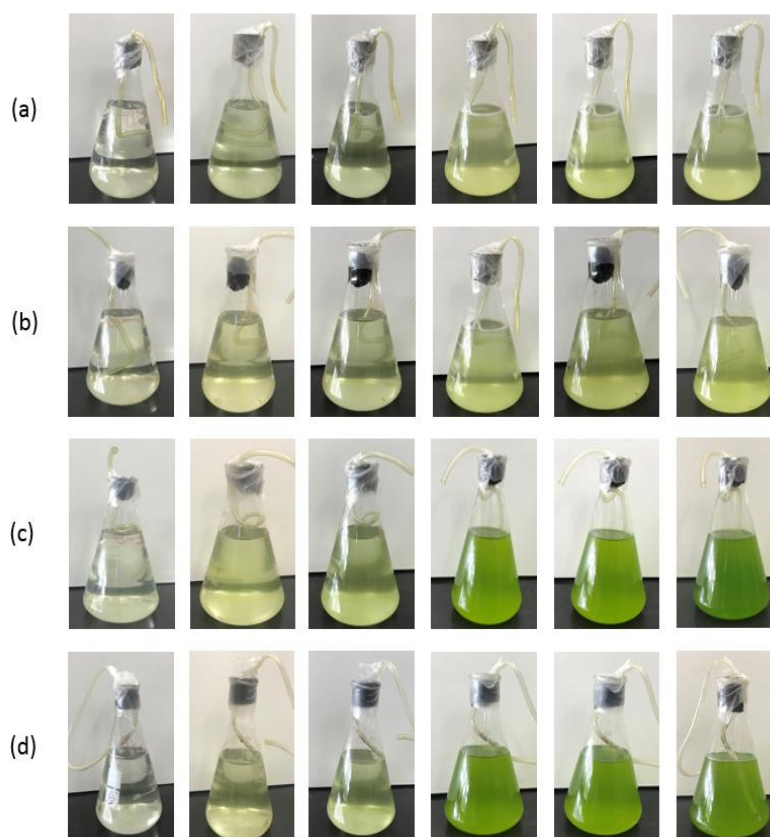


Figura 18 - Avaliação do crescimento de microalgas a partir da intensidade de cor: (a) água purificada; (b) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 8,7; (c) DAM tratada com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com macronutrientes; e (d) Meio Guillard.

Fonte: Autora (2019)

Após término do contato de 10 dias do meio com as microalgas, o efluente foi filtrado e enviado para análise. Pode-se observar na Tabela 14 a caracterização do efluente após o contato com as microalgas.

Tabela 14 - Caracterização do efluente após o contato com as algas para polimento

	DAM bruta		Tratamento convencional com Ca(OH)_2 pH 8,7		Biossorção com microalgas				CONAMA 430
					Ca(OH) ₂ ; pH 8.7 + algas + macronutrientes		Ca(OH) ₂ ; pH 8.7 + algas		
	média	σ	média	σ	média	Σ	média	σ	
pH	2,33	0,15	8,70	0,00	5,75	0,07	5,55	0,21	5 - 9
Cu (mg L ⁻¹)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1
Zn (mg L ⁻¹)	62,65	0,55	0,10	0,10	0,08	0,04	0,06	0,06	5
Fe (mg L ⁻¹)	611,38	5,11	0,90	0,02	0,05	0,07	0,08	0,11	15
Mn (mg L ⁻¹)	37,98	0,36	1,54	0,40	0,45	0,11	0,46	0,27	1
Pb (mg L ⁻¹)	0,41	0,02	0,15	0,05	0,02	0,03	0,06	0,08	0,5
Al (mg L ⁻¹)	269,37	11,67	0,08	0,08	0,30	0,43	0,24	0,33	-
As (mg L ⁻¹)	0,85	0,05	0,30	0,31	0,12	0,14	0,14	0,18	0,1
SO ₄ (mg L ⁻¹)	7410,40	36,94	2727,60	19,49	1250,40	3,82	1325,75	5,59	-
Condutividade (mS)	7,79	0,02	5,28	0,07	4,34	0,10	4,84	0,08	-

A aplicação de microalgas mostrou-se um processo eficiente na remoção de metais residuais, uma vez que os níveis de concentração de manganês diminuíram e ficaram dentro dos limites estabelecidos pela CONAMA 430/2011. Também houve diminuição significativa da concentração de arsênio, porém ainda um pouco acima do limite exigido pela legislação. A Figura 19 traz um comparativo entre o somatório dos metais remanescentes na DAM bruta, após o tratamento por neutralização/precipitação e após o tratamento por neutralização/precipitação/biossorção (no caso com a adição dos macronutrientes N e P).

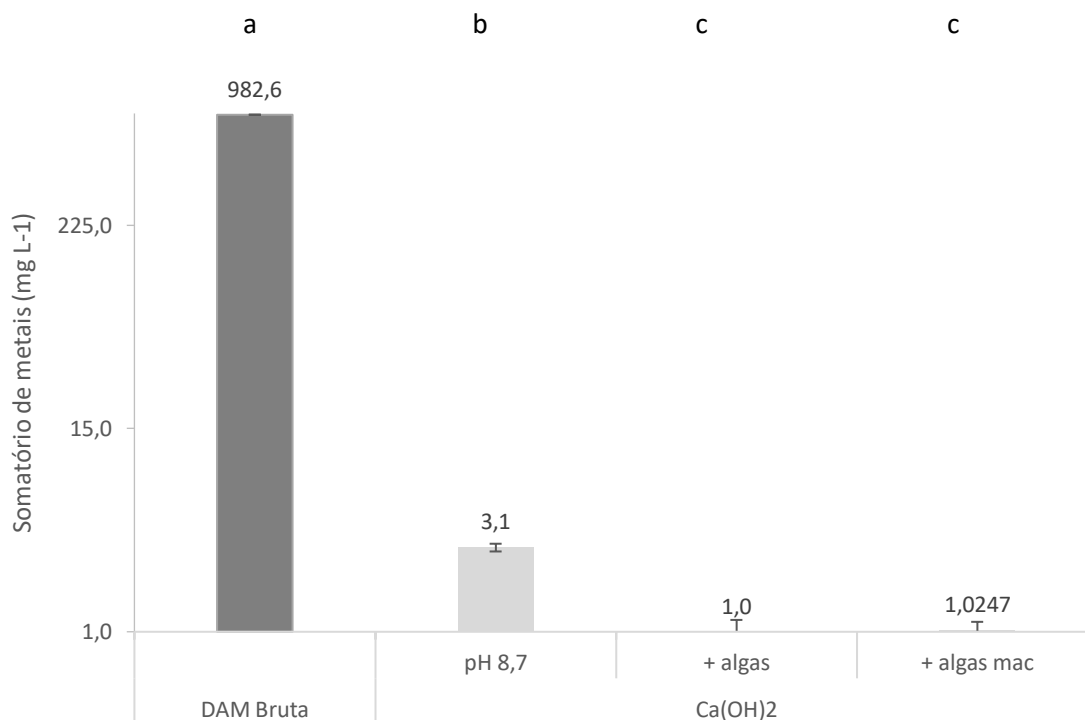


Figura 19 - Soma dos teores de metais (Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Al e As) para drenagem bruta e após o tratamento por neutralização/precipitação com $(\text{CaOH})_2$ em pH 8,7) e após o tratamento por neutralização/precipitação/biossorção $(\text{CaOH})_2$ em pH 8,7 e a microalga *Secendesmus* sp).

Fonte: Autora (2019)

A adição de uma solução contendo macronutrientes forneceu insumos para um melhor crescimento das microalgas, o que favorece a geração de biomassa, que poderia ser aplicada, por exemplo, na produção de biocombustíveis. Analisando o processo em relação a remoção global de metais, após teste estatístico por meio de análise de variância (ANOVA) com nível de significância 0,05, pôde-se concluir que o uso de microalgas aumentou significativamente a remoção de metais comparado processo sem esta etapa. Contudo, não houve uma diferença significativa em termos de remoção global de metais adicionando ou não os macronutrientes.

Ainda, na Figura 20 pode se ver a redução na concentração de sulfatos após o tratamento secundário por meio de polimento com microalgas. A DAM bruta possui um valor médio de 7410,4 mg L⁻¹, passando 2727,6 mg L⁻¹ ao realizar o tratamento convencional com o agente precipitante $\text{Ca}(\text{OH})_2$ com pH 8,7 e esta etapa, após o polimento com algas passou a valores de 1325,7 mg L⁻¹ (sem macronutrientes) e 1250,4 mg L⁻¹ (com macronutrientes). Assim, o

processo de bioissorção, além de remover concentrações residuais de metais, mostrou-se eficiente na remoção de sulfato, garantindo uma redução de mais de 50% em relação ao efluente já tratado com Ca(OH)_2 em pH 8,7.

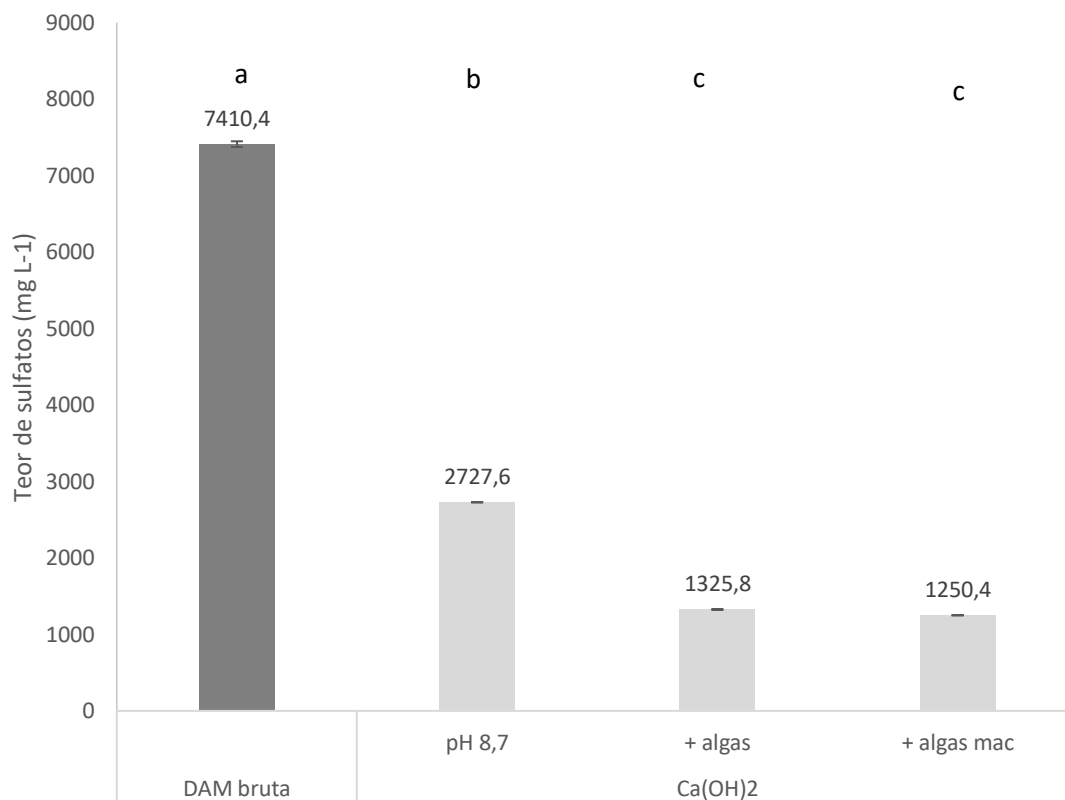


Figura 20 - Teor de sulfatos total para Drenagem bruta e tratamentos com Ca(OH)_2 (8,7, 8,7 com algas, 8,7 com algas e macronutrientes).
Fonte: Autora (2019)

5.4. Toxicidade

Os estudos de toxicidade foram conduzidos com *Allium cepa* e *Daphnia magna*, assuntos que serão abordados a seguir.

5.4.1 *Allium cepa*

A Figura 21 mostra os resultados relativos ao comprimento da raiz e a Figura 22 em relação a massa do *Allium cepa* (cebola) na DAM bruta e após

as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.

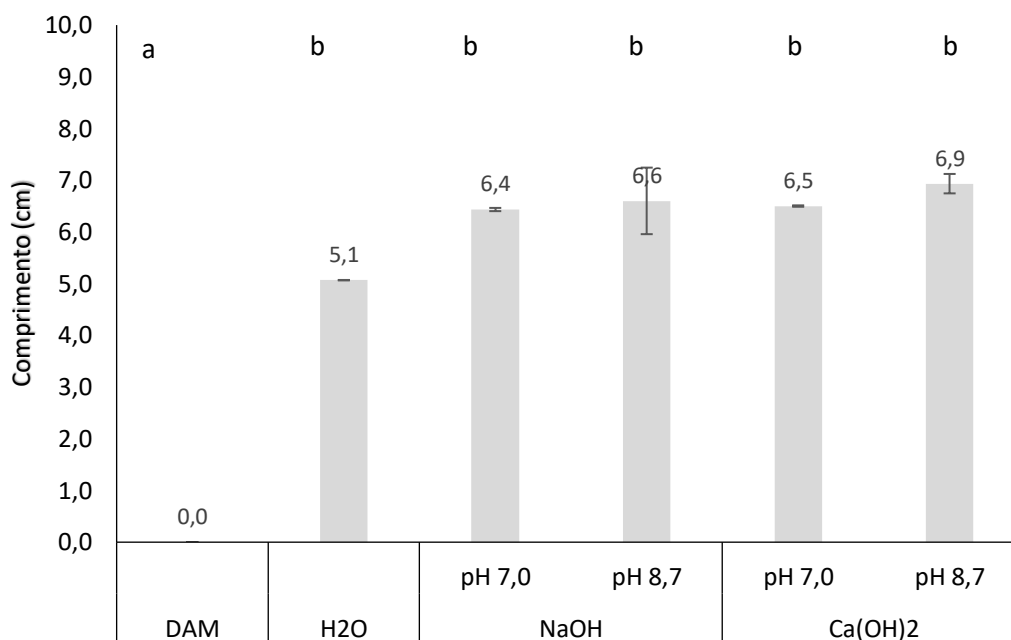


Figura 21 - Resultado do comprimento radicular de *Allium cepa* para a DAM bruta, após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação e no controle. Fonte: Autora (2019)

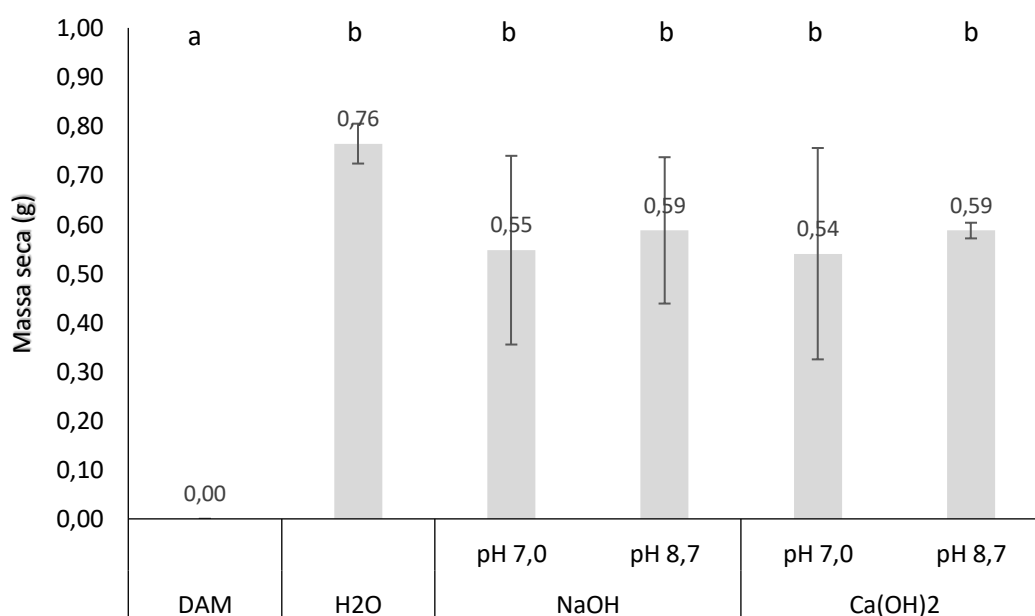


Figura 22- Resultado da massa das raízes de *Allium cepa* para a DAM bruta, após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação e no controle. Fonte: Autora (2019).

A inibição do total do crescimento das raízes da cebola, tanto em massa como no comprimento, aponta a elevada toxicidade da amostra de drenagem ácida antes do tratamento. O efluente mostrou-se tóxico para o bioindicador, provavelmente devido à elevada acidez do meio e a alta concentração de metais presente. Esses valores estão de acordo com o estudo de Geremias et al. (2012), que também sugerem que o efeito fitotóxico estaria associado aos baixos valores de pH (2,3) e a expressiva concentração de metais como ferro, alumínio, manganês, zinco e chumbo presentes no efluente. O efeito fitotóxico pode estar relacionado à capacidade destes compostos serem acumulados pela planta e, como consequência, poderiam ser desencadeadas diversas alterações.

Após os tratamentos, com a neutralização do meio aquoso e expressiva diminuição da concentração dos metais, observou-se que o efluente não se apresentou tóxico. Ocorreu um adequado crescimento radicular, tanto em crescimento como em massa, não diferindo, em nenhuma das situações de tratamento estudadas, em relação à amostra de controle. Essa afirmação é decorrente da análise estatística ANOVA para um nível de significância de 95%.

Os resultados de índices de crescimento relativo e índice de inibição do *Allium cepa* na DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação estão dispostos na tabela 15.

Tabela 15 - Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Inibição (Li) das raízes de *Allium cepa* para a DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.

	Comprimento	Desvio padrão	ICR	Li (%)
H ₂ O	5,07	0,115	1	0
DAM bruta	0,00	0,000	0	100
NaOH - pH 7,0	6,43	0,306	1,27	-27
NaOH - pH 8,7	6,60	1,389	1,30	-30
Ca(OH) ₂ - pH 7,0	6,50	0,200	1,28	-28
Ca(OH) ₂ - pH 8,7	6,93	0,751	1,37	-37

Critério de toxicidade (Li): Inibição – ICR entre 0 e 0,8, Efeito não significativo – ICR entre 0,8 e 1,2, Estimulação – ICR maior que 1,2.

Os valores de ICR são classificados em três categorias, de acordo com os efeitos de toxicidade (Young et al., 2012): inibição do alongamento radicular quando o valor obtido para ICR está compreendido entre 0 e 80%, sem efeito significativo quando o valor obtido para ICR está igual ou entre 80 e 120%, e estimulação do alongamento radicular quando o valor obtido para ICR é superior a 120%. Com base na tabela 15, em todos os tratamentos analisados, ocorreu uma estimulação do crescimento radicular.

A Tabela 16 apresenta os resultados dos índices de germinação do *Allium cepa* na DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.

Tabela 16 - Índice de germinação das raízes de *Allium cepa* para a DAM bruta e após as diferentes condições aplicadas no tratamento físico-químico por neutralização/precipitação.

	Número de raízes	%G	IG (%)
H ₂ O	28	100	100
DAM bruta	0	0	0
NaOH - pH 7,0	20	71	90
NaOH - pH 8,7	23	81	105
Ca(OH) ₂ - pH 7,0	26	92	118
Ca(OH) ₂ - pH 8,7	20	71	97

Critério de toxicidade (IG) – Baixa toxicidade - IG maior que 80%, toxicidade moderada – IG entre 50 e 80%; Alta toxicidade – IG menor que 50%.

Os valores de IG também foram classificados em três categorias, de acordo com a presença de substâncias fitotóxicas (Zucconi et al., 1981): ausência ou baixa concentração de substâncias fitotóxicas, quando o valor obtido para IG é superior ou igual a 80; presença moderada de substâncias fitotóxicas, quando o valor obtido para IG está compreendido entre 50 e 80; e alta concentração de substâncias fitotóxicas, quando o valor obtido para IG é inferior ou igual a 50. De acordo com os dados da Tabela 16, a DAM bruta é considerada fitotóxica e os efluentes tratados, em todas as condições, classificados como ausência ou baixa concentração de substâncias fitotóxicas.

Resumindo os dados apresentados nas tabelas 15 e 16, acerca dos índices de inibição de crescimento e germinação, nota-se que a única amostra que se apresenta crítica é a do efluente bruto sem tratamento, que promoveu um efeito

fitotóxico na germinação e crescimento de *Allium cepa*. Isso demonstra a eficiência do tratamento da drenagem ácida de minas pelo método de neutralização/precipitação, em relação a esse bioindicador.



Figura 23 – Imagens de desenvolvimento das raízes de *Allium cepa* após o contato com as seguintes soluções: (a) drenagem ácida de minas bruta (DAM) ; (b) água – amostra de controle; (c) DAM tratada com NaOH em pH 7,0 (d) DAM tratada com NaOH em pH 8,7 (e) DAM tratada com Ca(OH)₂ em pH 7,0; e (f) DAM tratada com Ca(OH)₂ em pH 8,7.

Fonte: Autora (2019)

Os mesmos testes ecotoxicológicos foram aplicados também para o efluente tratado por neutralização/precipitação e que recebeu um tratamento final com as microalgas. Nas Figura 24 e 25 apresentam, respectivamente, o resultado do comprimento e da massa das raízes de *Allium cepa*.

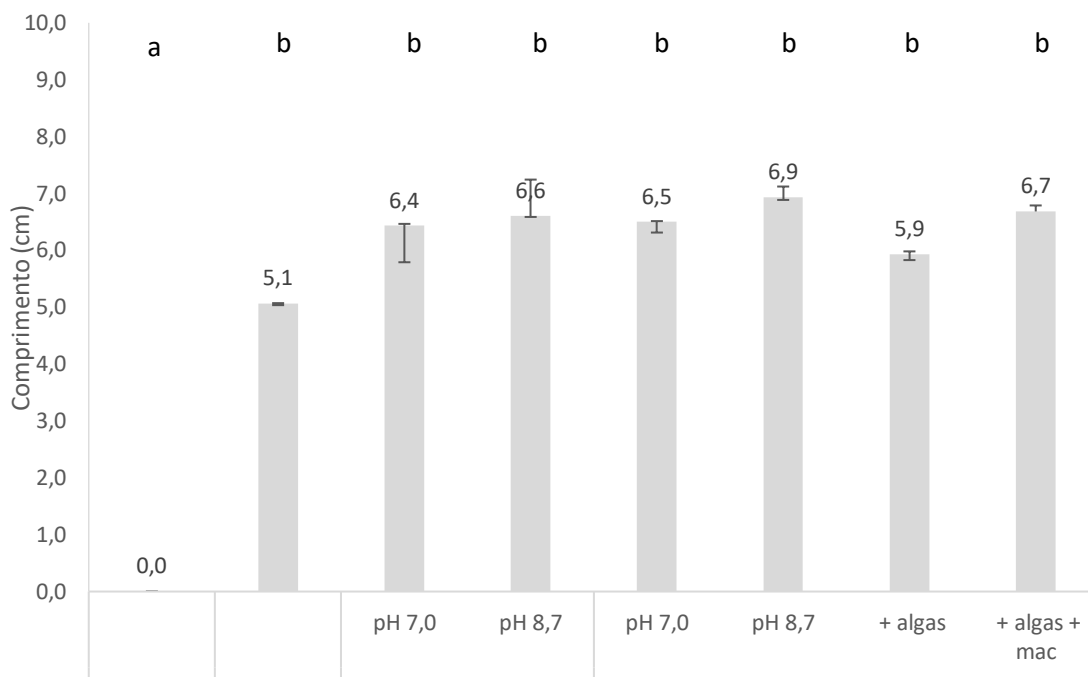


Figura 24- Resultado do comprimento radicular de *Allium cepa* para a DAM bruta; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e sem adição de nutrientes; e após o tratamento por neutralização precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e adição de nutrientes.

Fonte: Autora (2019)

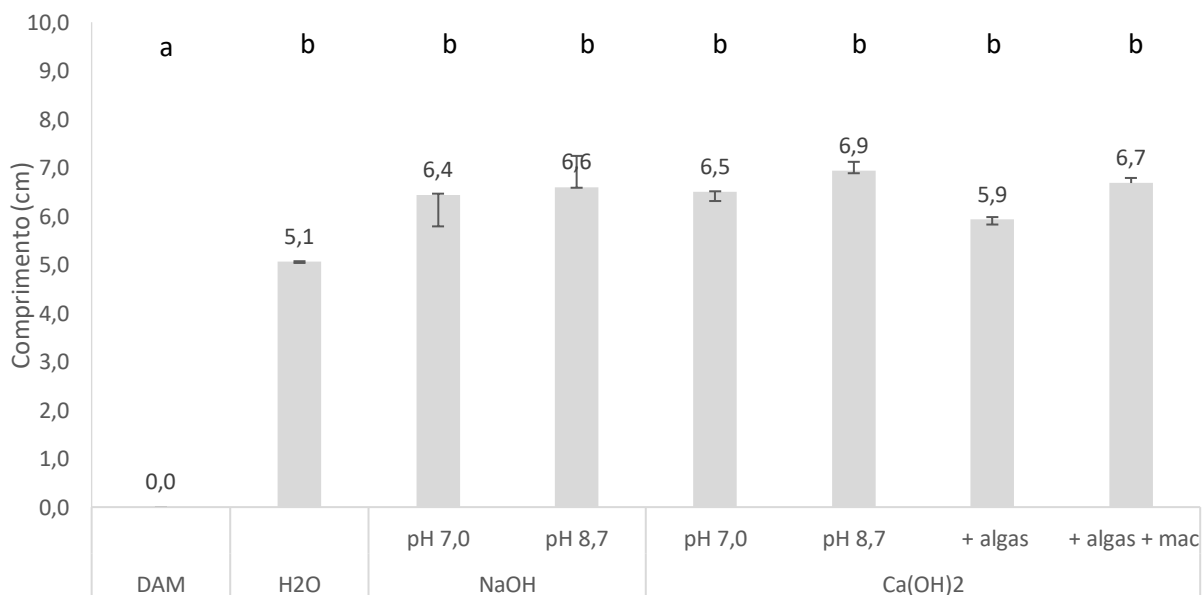


Figura 25 - Resultado da massa do sistema radicular de *Allium cepa* para a DAM bruta; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e sem adição de nutrientes; e após o tratamento por neutralização precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas e adição de nutrientes

Fonte: Autora (2019)

É possível observar a semelhança no crescimento das raízes de *Allium cepa* entre a DAM tratada apenas pelo processo de neutralização/precipitação e as drenagens que receberam um estágio de polimento com microalgas. Este fato sugere que a etapa de polimento com microalgas não altera o comportamento do crescimento radicular da cebola, tanto negativamente como positivamente.

Os resultados de índices de crescimento relativo e índice de inibição após o tratamento secundário com microalgas estão dispostos na tabela 17.

Tabela 17 - Índice de Crescimento Relativo (ICR) e Índice de Inibição (Li) das raízes de *Allium cepa* para a DAM bruta, após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7; e após o tratamento por neutralização/precipitação com Ca(OH)_2 em pH 8,7 com inoculação de algas com e sem adição de nutrientes.

	Comprimento	Desvio padrão	ICR	Li (%)	
H ₂ O	5,07	0,12	1	0	
DAM sem tratamento	0	0	0	100	
Ca(OH) ₂ pH 8,7	6,93	0,75	1,37	-37	
biossorção	+ algas	5,93	0,37	1,17	-17
	+ algas e macronutrientes	6,68	0,56	1,32	-32

Critério de toxicidade (Li): Inibição – ICR entre 0 e 0,8, Efeito não significativo – ICR entre 0,8 e 1,2, Estimulação – ICR maior que 1,2.

Verifica-se que, após o tratamento secundário, o crescimento de *Allium cepa* se assemelha aos resultados obtidos ao efluente tratado apenas com o tratamento ativo por neutralização/precipitação. O índice de inibição de crescimento é negativo, ou seja, tendo um crescimento maior que na amostra controle.

Os resultados dos índices de germinação após o tratamento secundário com microalgas estão dispostos na Tabela 18.

Tabela 18 - Índices de germinação das raízes de *Allium cepa* para a DAM bruta, após o tratamento por neutralização/precipitação com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7; e após o tratamento por neutralização/precipitação com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em pH 8,7 com inoculação de algas com e sem adição de nutrientes.

	Número de raízes	%G	IG (%)
H ₂ O	28	100	100
DAM sem tratamento	0	0	0
Ca(OH) ₂ pH 8,7	20	71	97
bissorção	+ algas	20,7	86
	+ algas e macronutrientes	25,3	119

Critério de toxicidade (IG) – Baixa toxicidade - IG maior que 80%, toxicidade moderada – IG entre 50 e 80%; Alta toxicidade – IG menor que 50%.

Em relação ao índice de germinação, de acordo com a classificação adotada por Zucconi et al. (1981) nota-se que após o tratamento secundário com microalgas, com e sem a adição de macronutrientes, o efluente é classificado como ausência ou baixa concentração de substâncias fitotóxicas.

5.4.2 *Daphnia magna*

A Tabela 19 mostra os resultados obtidos para os testes de toxicidade aguda para o microcrustáceo *Daphnia magna* nas amostras de drenagem ácida bruta, e respectivos tratamentos por neutralização/precipitação e bioassorção com a alga *Scenedesmus* sp.

Tabela 19 - Ensaio de toxicidade para o microcrustáceo *Daphnia magna*.

	FT	CE-50 48h	Toxicidade	
DAM sem tratamento	400	6,25	Extremamente tóxica	
NaOH pH 7	8	>100%	Pouco tóxica	
NaOH pH 8,7	8	>100%	Pouco tóxica	
Ca(OH) ₂ pH 7	8	>100%	Pouco tóxica	
Ca(OH) ₂ pH 8,7	4	>100%	Pouco tóxica	
bissorção	+ algas	2	>100%	Pouco tóxica
	+ algas e macronutrientes	2	>100%	Pouco tóxica

Critério de toxicidade: Extremamente tóxica - CE 50 <25%, Toxicidade alta - CE 50 entre 25-50%, Toxicidade moderada - CE 50 entre 50-65%, e Pouco tóxica - CE 50 > 65%

Os ensaios ecotoxicológicos com o microcústáceo *Daphnia magna* mostraram que a DAM, apresentou um FT (fator de toxicidade) igual a 400 e um CE-50 (concentração de efeito a 50% da população) igual a 6,25%, enquadrando-o como efluente extremamente tóxico. Resultados semelhantes foram apresentados por Kang et al. (2011) mostraram que a drenagem ácida é altamente tóxica para os microcústáceos. Essa alta toxicidade pode se apresentar devido ao pH ácido, fora da faixa crítica de sensibilidade da *Daphnia* (<4 e >11,5) e as altas concentrações de metais (Arambasic et al., 1995; Seco et al., 2003).

Após os tratamentos por neutralização, observou-se uma clara diminuição no FT, apresentando um resultado igual a 8, para os tratamentos com NaOH com pH 7,0 e 8,7 e com Ca(OH)₂ com pH 7,0 e um resultado igual a 4 para o tratamento com Ca(OH)₂ com pH 8,7. O CE-50 foi maior que 100% para todos os tratamentos por neutralização, enquadrando assim, o efluente tratado como pouco tóxico.

O efeito tóxico remanescente pode estar relacionado à concentração de manganês ainda presente após o tratamento, visto que, a espécie estudada possui sensibilidade a este metal. (Soucek et al., 2000; Gerhardt et al., 2005). Pode também estar relacionado à alta condutividade, visto que o organismo possui sensibilidade em condutividade maior que 2 mS cm⁻¹. (Benzie, 2005).

Após o polimento com algas do efluente tratado com Ca(OH)₂ com pH 8,7, houve uma maior diminuição do FT, apresentando um resultado igual a 2 para o polimento com algas com e sem adição de macronutrientes. O CE-50 foi maior que 100%, enquadrando-o também como pouco tóxico.

Desta forma, fica visível a eficiência dos tratamentos propostos na diminuição da toxicidade do efluente.

5.5 Sugestão de sistema de tratamento de drenagem ácida de minas

Após os resultados obtidos neste trabalho, estabeleceu-se a seguinte possível concepção de tratamento de efluentes de DAM.

O primeiro passo do tratamento consiste em neutralizar a acidez da DAM com a adição do agente alcalinizante Ca(OH)_2 para elevar o pH e fornecer íons hidroxila (OH^-) para reagir com os íons metálicos dissolvidos na água, para assim, os hidróxidos metálicos insolúveis se precipitarem e serem removidos do efluente por filtração. O melhor pH para tal ação seria 8,7.

Em complemento a este tratamento primário, sugere-se um tratamento secundário por meio da construção de uma lagoa de polimento com microalgas, a fim de remover os metais remanescentes. Sugere-se uma lagoa rasa, com alta incidência de luz solar, e um tempo de detenção de 10 dias. Um sistema de remoção de algas, por flotação por ar dissolvido, como sugerido por Borges (2014), Cerski (2017) e Nicknig (2018).

Assim, um fluxograma simplificado que exhibe o roteiro de tratamento da drenagem ácida de minas proposto neste trabalho pode ser visualizado na Figura 25.

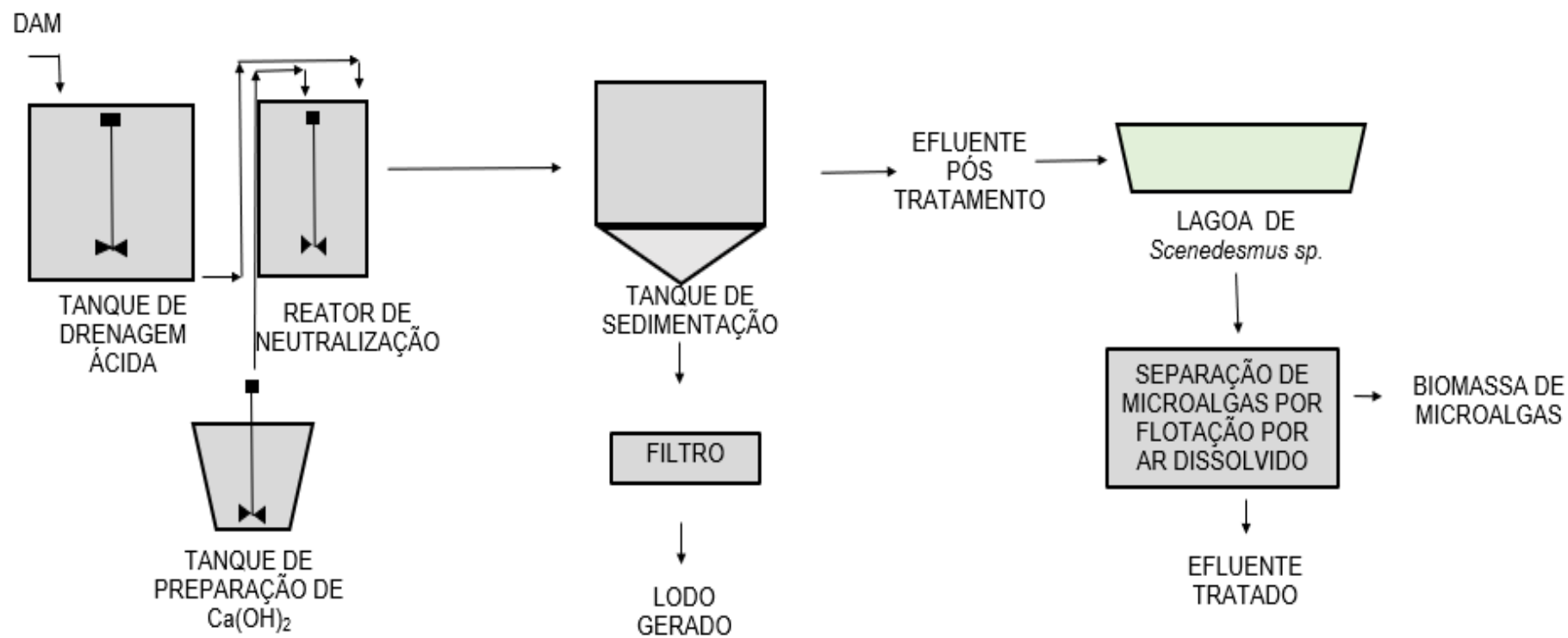


Figura 25 – Fluxograma simplificado do roteiro de tratamento da DAM
Fonte: Autora (2019)

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- A drenagem ácida de minas (DAM) bruta estudada neste trabalho apresentou elevada acidez e altas concentrações dos metais Fe, Al, Mn e Zn e ânions sulfatos. Em sua constituição também havia metais tóxicos como Pb, e As. Em vários quesitos, entre os quais pH e a concentração dos elementos Fe, Mn, Zn, Pb e As, o efluente não se enquadra os padrões de lançamento previstos na Resolução nº 430 do CONAMA.

- O tratamento da DAM utilizando o método da neutralização/precipitação, independentemente do agente alcalinizante ou do pH aplicado, possibilitou a neutralização bem como a remoção de uma significativa carga de elementos metálicos presentes em solução. Considerando os agentes alcalizantes, o uso de Ca(OH)_2 promoveu uma maior remoção dos metais e de íons sulfatos em ambos os pHs estudados - pH 7,0 e pH 8,7 – do que o NaOH. Ainda, comparando-se ambos os pHs com o uso de Ca(OH)_2 , em pH 8,7 obteve-se uma maior remoção de íons manganês e sulfatos. Assim, a condição mais eficiente de tratamento foi com Ca(OH)_2 em pH 8,7, pois obteve-se os melhores resultados em termos de remoção global de metais, sulfatos e condutividade assim como menores índices de toxicidade, especialmente em relação ao microcrustáceo *Daphnia magna*. Contudo, mesmo nesta condição, os níveis de Mn e As ainda remanesceram acima do limite de emissão estabelecido pela Resolução nº 430 do CONAMA.

- O processo de biossorção com a microalga *Scenedesmus sp* “in vivo” se mostrou eficiente como uma etapa de polimento do efluente tratado. Após 10 dias de incubação, a concentração de algas chegou a $0,23 \text{ g L}^{-1}$ sem o uso de nutrientes e a $0,65 \text{ g L}^{-1}$ com a adição de nutrientes. O processo contribuiu significativamente na remoção de Mn e As. A concentração de Mn ficou abaixo do estabelecido como máximo para lançamento em corpos hídricos e a concentração de As, mesmo que acima, em um nível praticamente limítrofe.

- O efluente bruto apresentou expressiva toxicidade para *Allium cepa*, uma vez que causou total inibição do crescimento e germinação das raízes. O

tratamento por neutralização/precipitação foi capaz de remover a fitotoxicidade sobre o organismo *Allium cepa*, já que não houve inibição do crescimento das raízes, demonstrando que não há capacidade fitotóxica. Foi realizada avaliação estatística dos resultados por análise de variância (ANOVA), no qual se comprovou que não há diferença significativa entre os tratamentos (considerando todas as variantes em relação aos reagentes e pH) e a água de controle; evidenciando a eficiência dos tratamentos adotados. O efluente bruto apresentou uma alta toxicidade para *Daphnia magna*, uma vez que seu FT foi 400. O tratamento por meio de neutralização/precipitação foi eficiente na diminuição da toxicidade, tornando o efluente pouco tóxico reduzindo o FT dos tratamentos aos seguintes níveis: com NaOH em pH 7,0 – FT = 8; NaOH em pH 8,7 – FT = 8; Ca(OH)₂ em pH 7,0 – FT = 8; e Ca(OH)₂ em pH 8,7 – FT = 4. É possível afirmar que ambos os organismos podem ser aplicados como bioindicadores no tratamento de águas ácidas de mineração de carvão. O crescimento das raízes *Allium cepa* apresentou como vantagem a facilidade, permitindo uma diferenciação entre tratado e não tratado, porém com baixa sensibilidade entre os diversos tipos de tratamento empregados. O teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna* apresentou uma maior sensibilidade, permitindo a diferenciação de resultados entre o efluente bruto e tratados bem como entre os diferentes tipos de tratamento aplicados.

Os resultados apresentados neste trabalho indicam que melhor condição para o processo convencional de tratamento da DAM por neutralização/precipitação é com uso de Ca(OH)₂ em pH 8,7, tanto em termos físico-químicos como toxicológicos, sendo já esta a condição utilizada por muitas carboníferas. A inclusão do processo de biossorção “in vivo” acrescenta vantagens a atual prática do setor, como o uso da água residual da mineração, o crescimento de uma biomassa microbiana com potencial econômico (por exemplo para produção de biocombustíveis) e a remoção de metais presentes ainda de forma residual no efluente.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho e como perspectivas para complementação dos estudos, propõe-se os seguintes trabalhos futuros:

- desenvolvimento de estudos de aumento da taxa de separação do lodo gerado no tratamento por neutralização/precipitação;
- recuperação de metais no lodo gerado após o tratamento por meio de neutralização/precipitação;
- estudos com outras espécies de algas para a remoção de metais residuais da drenagem ácida de minas;
- estudos de polimento de DAM com algas em escala piloto;
- estudos de aproveitamento da biomassa de algas produzidas em águas residuárias da DAM;
- utilização de biomarcadores de estresse oxidativo em *Allium cepa* em DAM brutas e tratadas;
- desenvolvimento de estudos de toxicidade em peixes em DAM brutas e tratadas.

8 REFERÊNCIAS

- AKCIL A., KOLDAS S. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production*, v 14, p. 1139-1145, 2006.
- ALVES, A. C. B.; SILVANO, J. Avaliação da sensibilidade de *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladóceras, Crustácea) ao Dicromato de Potássio. *Revista Instituto Adolfo Lutz.*, São Paulo, v.65, p. 59-61, 2006.
- ALVIM, L. B., KUMMROW, F., BEIJO, L. A., LIMA, C. A. & BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. *Na Interdisciplinary Journal of Applied Science*, v 6, p. 255-265, 2011.
- ANASTOPOULOS, I.; KYZAS, G. Z. Progress in batch biosorption of heavy metals onto algae. *Journal of Molecular Liquids*, v 209, p. 77–86 , 2015.
- APHA Standard Methods, 15th ed., Method 426 C, 1980.
- BARBOSA, J.P. et al. Assessoria na Implantação de Tecnologias para Mitigação e Controle de Drenagens Ácidas. Relatório Final elaborado pelo CETEM / MCT ao SIECESC, 2002.
- BENABDALLAH, N. K., HARRACHE, D., MIR, A., DE LA GUARDIA, M., BENHACHEM, F. D. Bioaccumulation of trace metals by red alga *Corallina elongata* in the coast of Beni Saf, west coast, Algeria. *Chem. Int.*, v. 3, p. 320-331, 2017.
- BENZIE, J.A.H. The genus *Daphnia* (including *Daphniopsis*) (Anomopoda: Daphniidae). *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 21*. Kenobi Productions, Ghent & Backhuys Publishers, Leiden, 376 p, 2005.
- BIRUNGI, Z. S.; CHIRWA, E. M. N. The adsorption potential and recovery of thallium using green micro-algae from eutrophic water sources. *Journal of Hazardous Materials*, v 299, p. 67–77, 2015.
- BITAR, O. Y. Avaliação da recuperação de áreas degradadas para mineração Região Metropolitana de São Paulo – SP, 1997.

BONA, Ariana de. Toxicidade das águas do Rio Carvão, município de Urussanga-SC, antes e após o seu tratamento com rejeito piritoso calcinado, utilizando-se organismos bioindicadores. TCC (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 37p. 2010.

BORGES, C. B. Biomassa de microalgas: separação da microalga marinha *nannochloropsis oculata* por coagulação, floculação e flotação por ar dissolvido. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA nº 430/2011. In: Resoluções, 2011.

BROWN, M.; BARLEY, B.; WOOD, H. Mine Water Treatment Technology. IWA Publishing, London, Application and Policy, 2002.

BULGARIU, D.; BULGARIU, L. Potential use of alkaline treated algae waste biomass as sustainable biosorbent for clean recovery of cadmium (II) from aqueous media: batch and column studies. Journal of Cleaner Production, v. 112, p. 4525–4533, 2016.

BWAPWA, J. K.; ANANDRAJ, A.; TROIS, C. Possibilities for conversion of microalgae oil into aviation fuel: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 80 p. 1345-1354, 2017.

CAETANO, M.; KIELING, A.; RAIMONDI, R.; GOMES, L.; SCHNEIDER, I.A. Ecotoxicity tests with *Allium cepa* to determine the efficiency of rice husk ash in the treatment of groundwater contaminated with benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene. Environmental Science and Pollution Research, v 25, p. 12849–12858, 2018.

CALZONI, G.L.; ANTOGNONI, F.; PARI, E.; FONTI, P.; GNES, A.; SPERANZA, A. Active biomonitoring of heavy metal pollution using *Rosa rugosa* plants Environmental Pollution, v 149 , p. 239-245, 2007.

CASSEMIRO, Eliane; ROSA, Luciano; CASTRO NETO, José Luís de. O passivo ambiental da região carbonífera do sul de santa catarina, 2004.

CERSKI, E. R. Estudo de separação de algas cultivadas em uma lagoa de alta taxa no tratamento de efluentes sanitários por coagulação-floculação e flotação

por ar dissolvido com ênfase na estabilidade do material flotado. Dissertação (Mestrado em PPGEM/UFRGS Programa de Pós-Graduação em Eng Minas, Metalúrgica e Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

CUI, R.; KWAK, J.I.; Na, Y.J. Comparative study of the sensitivity of *Daphnia galeata* and *Daphnia magna* to heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. V 162, p. 63-70, 2018.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL - DNPM. Anuário mineral brasileiro 2010. Brasília: DNPM, 2010.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL - DNPM. Anuário mineral brasileiro 2016. Brasília: DNPM, 2016.

EDMUNDSON, S.J; WILKIE, A.C. Landfill Leachate – a water and nutriente resource for algae-based biofuels. *Environmental Technology. Sustainable Technologies: Bioenergy and Biofuels from Biowaste and Biomass*. v 34, p. 1849-1857, 2013.

FARFÁN, J.R.J. Zumarán. Avaliação do potencial de drenagem ácida de rejeitos da indústria mineradora. Rio de Janeiro: CETEM/MCT. Série Tecnologia Ambiental, 29, 2004.

FATIMA, R.A.; AHMAD, M. Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: A comparison of three bioassays. *Mutation Research*, v 609, p.81-91, 2006.

FISKESJÖ G. The allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, v 102, p. 99-102, 1985.

FISKESJÖ G. The Allium test--an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*. v 197, p. 243-260, 1988.

FLORES-CHAPARRO, C. CHAZARO-RUIZ, L., ALFARO, C. HUERTA-DIAZ, M. RANGEL-MENDEZ, J. Biosorption removal of benzene and toluene by three dried macroalgae at different ionic strength and temperatures: Algae biochemical composition and kinetics. *Journal of Environmental Management*, v 193, p. 126–135, 2017.

FRANCO, A. L. C., Lôbo, I.P., Cruz, R.S. Teixeira, C.M.L.L., Almeida Neto, J.A., Menezes, R.S. Biodiesel De Microalgas: Avanços E Desafios. *Quimica Nova*, v 36, p. 437–448, 2013.

GAIKWAD, R. W., GUPTA, D.V. Review on removal of heavy metals from acid mine drainage. *Applied Ecology and Environmental Research*, v 6, p. 81-98, 2008.

Gendy, T. S., El-Temtamy, S. A. Commercialization potential aspects of microalgae for biofuel production: an overview. *Egyptian Journal Petroleum*, v 22, pp. 43-51, 2013.

GEREMIAS, R. Utilização de rejeito de mineração de carvão como adsorvente para redução da acidez e remoção de íons de metais em drenagem ácida de mina de carvão. Tese. 2008.

GEREMIAS, R., BORTOLOTTI, T. WILHELM, D. PEDROSA, R.C. FAVERE, V.T. Efficacy assessment of acid mine drainage treatment with coal mining waste using *Allium cepa* L. as a bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v 79, p. 116-121, 2012.

GRIMA, E. M., BELARBI, E. H., FERNANDEZ, F. G. A., MEDINA, A. R., CHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances*, v 20, p. 491-515, 2003.

GUILLARD, R. R. L. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8714-9_3>

GUNN, J., SARRAZIN-DELAY, C., WESOLEK, B., STASKO, A., SZKOKAN-EMILSON, E., Delayed Recovery of Benthic Macroinvertebrate Communities in Junction Creek, Sudbury, Ontario, after the Diversion of Acid Mine Drainage. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. v 16, p 901–912, 2010.

HUTCHINSON, I.P.G. ; ELLISON, R.D. Mine Waste Management, Lewis Publishers, Boca Raton, USA, p. 63-122, 1992.

KEFENI, K. K.; MSAGATI, T. A. M.; MAMBA, B.B. Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review. *Journal of Cleaner Production*, v 151, p. 475-493. 2017.

KIELING, A.; MENDEL, T.; CAETANO, M. Efficiency of rice husk ash to adsorb chromium(VI) using the *Allium cepa* toxicity test. *Environmental Science and Pollution Research*. v. 26, p. 28491–28499, 2018.

KNIE, J.L.W.; LOPES E.W.B. Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. – Florianópolis: FATMA/GTZ. 289p. 2004

KONTOPOULOS, A. Acid Mine Drainage Control. In: CASTRO, S.H. et alii. (Eds.). *Effluent Treatment in the Mining Industry Chile: University of Concepción*, p.57-118, 1998.

KOPEZINSKI, I. Mineração x Meio Ambiente: Considerações Legais, Principais Impactos Ambientais e seus Processos Modificadores, Porto Alegre: Ed. Universidade/ UFRGS, 103 p., 2000.

LEME, D.M., MARIN-MORALES, M.A. .*Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, v 682, p. 71-81, 2009.

LORENZO, M. A importância da mineração para o desenvolvimento de uma sociedade. 2015. Disponível em: <<http://www.geoexplorerconsultoria.com/#!a-importancia-da-mineracao/cd22>>.

LOUREÇO, S. de O. Cultivo de microalgas marinhas : princípios e aplicações. 2° ed. São Carlos: RIMA, 2006.

MACAN, J. M.; TEIXEIRA, G. A.; PICH, C.T.; PEDROSA, R. C.; FÁVERE, V. T.; GEREMIAS, R. Avaliação da toxicidade de drenagem ácida de mina de carvão, utilizando parâmetros físico-químicos e bioensaios. *Brazilian Journal of Biosciences*. V 10, p. 275-280, 2012.

MILLER, S. Acid Mine Drainage from Mine Waste and Mining Operations, *Proceedings of the Acid Mine Drainage Workshop, Straban, Tasmania, Tasmanian Chamber of Mines*, p. 39-89, 1992.

MUELLER, B. Technical and regulatory guidance document for constructed treatment wetlands. Washington: The Interstate Technology & Regulatory Council Wetland Team – ITRC, 2003.

MÜLLER, C., CHAGAS, F. F., PERES, M. T. L. P., HESS, S. C., FACCENDA, O. & DALOSO, D. M. Potencial fitotóxico de algumas espécies Gleicheniaceae sobre *Allium cepa* L. Revista Brasileira de Biociências, v 5, p. 45-47. 2007.

NICKNIG, M. A.; Remoção de microalgas (*scenedesmus sp.*) cultivadas em uma água residuária da mineração de carvão via flotação por ar dissolvido (FAD). Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2018.

OLIVEIRA, A. C. Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus sp.* em efluente de bovinocultura biodigerido. Universidade federal do Paraná, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; BARATA, A.; BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; *Scenedesmus obliquus* in poultry wastewater bioremediation, Environmental Technology, v 40, p. 3735-3744, 2019.

PELEGRINI, N. N. B. P., PELEGRINI, R. T. & PATERNIANI, J. E. S. Ecotoxicological evaluation of leachate from the Limeira sanitary landfill with a view to identifying acute toxicity. Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science, v 2, p 34-43, 2007.

PIVA, R.B. Economia ambiental sustentável: os combustíveis fósseis e as alternativas energéticas. Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Ciências Econômicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 81p., 2010.

POSSA, M. V. SOARES, P. S. M.; SANTOS, M. D. C. Dos; Carvão Brasileiro : tecnologia e meio ambiente. v. 1, 2003.

RAMIREZ, N. N. V. Estudo Do Crescimento Da Microalga *Scenedesmus Sp.* em Vinhaça. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [s. l.], 2013.

RASHID, N. et al. Enhanced electricity generation by using algae biomass and activated sludge in microbial fuel cell. Science of the Total Environment, v 456, p.91-94, 2013.

RIBERO, J. L. D.; CATEN, C. S. T. Projeto de Experimentos: Série Monográfica Qualidade. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção - Escola de Engenharia de Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 169 p, 2014.

RICHA, S., DINESH, K. & GUPTA, S. K. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. *Bioresource Technology*. v 96, p.1867-1871, 2005.

RIDGE, T.; SEIF, J. M. Coal Mine Drainage Prediction and Pollution Prevention in Pennsylvania; eds.; Pennsylvania Department of Environmental Protection: Pennsylvania, 1998.

RIPOLL, N. et al. Hydrogen production from algae biomass in rich natural gas-air filtration combustion. *International Journal of Hydrogen Energy*, v 42, p. 1–10, 2017.

SAURABH, C. et al. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. *Science of the Total Environment*. v 347, p. 46– 52, 2005.

SCHNEIDER, R. L.; MÜHLMANN, H.; TOMMASI, E.; MEDEIROS, R. A.; DAEMON, R. F.; NOGUEIRA, A. A.; Anais do XXVIII Congresso Brasileiro de Geologia, Porto Alegre, Brasil, 1974.

SCHNEIDER C.H.; Caracterização do Impacto Ambiental e Tratamento da Drenagem Ácida de Minas com Resíduos Alcalinos na Mineração de Carvão de Santa Catarina: Mina Um Il Verdinho, Criciúma. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 128p., 2006.

SECO, J.; FERNANDEZ-PEREIRA, C. ; Vale, J. A study of the leachate toxicity of metal-containing solid wastes using *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. v 56, p. 339-350, 2003.

SILVA, A. C.. Tratamento do percolato de aterro sanitário e avaliação da toxicidade. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2002.

SILVA, R. A. Recuperação hidrometalúrgica de metais da drenagem ácida de minas por precipitação seletiva. Porto Alegre, 2010.

SILVEIRA, A.N., SILVA, R., RUBIO, J. Treatment of acid mine drainage (AMD) in South Brazil: comparative active processes and water reuse. *International Journal of Mineral Processing*, v 93, p. 103-109, 2009.

SIVULA, L.; VEHNÄINEN, E.R.; KARJALAINEN, A.K.; KUKKONEN, J.V.K. Toxicity of biomining effluents to *Daphnia magna*: Acute toxicity and transcriptomic biomarkers. *Chemosphere*, v 210, p. 304-311, 2018.

SKOUSEN, J; HILTON, T.; FAULKNER, B. Overview Of Acid Mine Drainage Treatment With Chemicals. In *Acid Mine Drainage Control And Treatment*, 2nd Ed., Chapter 23, P. 237-47. West Virginia University / National Mine Land Reclamation Center, West Virginia., 1996.

Skousen, J., Zipper, C., Rose, A., Ziemkiewicz, P., Nairn, R., McDonald, L.M., Kleinmann, R.L.. Review of passive systems for acid mine drainage treatment. *Mine Water and Environment*, v 36, p.133–153, 2017.

SKOUSEN, J., Ziemkiewicz, P.F., McDonald, L.M. Acid mine drainage formation, control and treatment: Approaches and strategies. *The Extractive Industries and Society*, v 6, p. 241-249, 2019.

SOUZA. V.P., SOARES, P.S.M., RODRIGES FILHO, S. Acid Rock Drainage I - Laboratory Studies on Acid Generation from a Coal Mine Overburden, *Proceedings VI Southern Hemisphere Meeting on Mineral Technology*, v 2, p. 603-608, 2001.

STANKIEWICZ, E. H.; ANDRADE, L. F.; DOMINGUES, L. L.. Levantamento ficológico do Rio Iguaçu, algas unicelulares – I. 1. ed. Curitiba: SURHEMA, 1981.

STEIN, J. R. *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University, 1979.

STEYN ,M.; OBERHOLSTER, P.J.; BOTHA, A.M.; GENTHE, B. VAN DEN HEEVER-KRIEK P.E. K ; WEYERS, C. Treated acid mine drainage and stream recovery: Downstream impacts on benthic macroinvertebrate communities in relation to multispecies toxicity bioassays. *Journal of Environmental Management*, V 235, 2019.

SUMMERS, W.; BONELLI, J. J. Guía ambiental para el manejo de drenaje ácido de minas. República del Perú, Ministerio de Energía y Minas, Dirección General de Asuntos Ambientales, 1997.

SVENSSON, B. M., MATHIASSEN, L., MARTENSSON, L. & BERGSTROM, S. Artemia salina as test organism for assessment of acute toxicity of leachatewater from landfills. Environ. Monit. Assess., p 309-321, 2005.

TAMÁS, L., BUDIKOVA, S., SIMONOVICOVA, J., HUTTOVÁ, J., SIROKA, B., MISTRÍK, I. Rapid and simple method for Al-toxicity analysis in emerging barley roots during germination. Biologia Plantarum. V 50, p.87-93, 2006.

VAN HUYSSSTEEN, E. Overview of Environmental Baselineing in Baselineing – Reference Manual, CANMET/INTEMIN, Ottawa, Canada, first ed., 1998.

VASQUEZ, B. A. F. Tratamento secundário de drenagem ácida de mina em banhados construídos e lagoa de polimento. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais (PPGE3M) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 125 f., 2007.

VOLESKY, B. Sorption and Biosorption. BV Sorbex, Inc., Montreal, 316, 2013.

WANG, X. et al. Sequestration of CO₂ discharged from anode by algal cathode in microbial carbon capture cells (MCCs). Biosensors and Bioelectronics, v 25, p. 2639–2643, 2010.

WANG, X.; JIANG, H.; FANG, D.; LIANG, J.; ZHOU, L. 1. A novel approach to rapidly purify acid mine drainage through chemically forming schwertmannite followed by lime neutralization. Water Research, v 151, p. 515-522, 2019.

WEN, Q. et al. Electricity generation from synthetic penicillin wastewater in an air-cathode single chamber microbial fuel cell. Chemical Engineering Journal, v 168, p. 572–576, 2011.

YI, Z. et al. Uranium biosorption from aqueous solution onto Eichhornia crassipes. Journal of Environmental Radioactivity, v 154, p. 43–51, 2016.

ZUCCONI, F.; FORTE, M.; MONACO, A.; DE BERTOLDI, M. Biological evaluation of compost maturity. BioCycle, 1981.

ANEXO 1 – Relatório de ensaio de toxicidade Drenagem ácida sem tratamento



Viamão, 23 de dezembro de 2019

Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310555/19

Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*

RESUMO DOS RESULTADOS

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	<6,25%
FT	-

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)

ABNT 15489 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	11/12/2019	Data término:	13/12/2019
Hora de início do ensaio:	16:30	Hora de fim do ensaio:	16:30

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	30,5	pH:	7,74
Dureza:	224,6		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	0	pH:	1,97
Dureza:	-		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

Id.	(%)	100 mL de água de diluição				
A-	Controle					
B-	6,25	100	mL da conc. C	→	200	mL de água de diluição
C-	12,5	100	mL da conc. D	→	200	mL de água de diluição
D-	25	100	mL da conc. E	→	200	mL de água de diluição
E-	50	100	mL da conc. F	→	200	mL de água de diluição
F-	100	200	mL de amostra	→	-	mL de água de diluição

Observação: Foi realizado ensaio paralelo com ajuste de pH para 8,44. Foram observados os seguintes resultados:
CE50-48h = 90,57; FT = 8; Amostra tóxica.



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310555/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,04	6,27	7,69	6,97
B	6,56	6,62	2,78	2,88
F	7,33	6,41	1,97	2,06

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

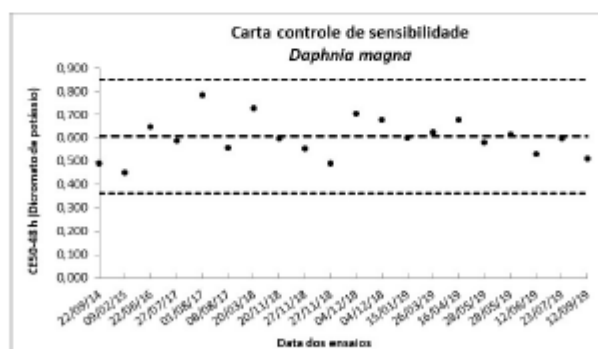
Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	5	5	5	5	20	100
C	5	5	5	5	20	100
D	5	5	5	5	20	100
E	5	5	5	5	20	100
F	5	5	5	5	20	100
G	-	-	-	-	0	0

Desvios: Não foram observados desvios durante a condução deste ensaio.

Cálculo estatístico

Não se aplica, pois a amostra causou efeito acima de 50% dos organismos testados em todas as concentrações.

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 2 – Relatório de ensaio de toxicidade NaOH pH 7,0



Viamão, 19 de dezembro de 2019

**Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310551/19****Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*****RESUMO DOS RESULTADOS**

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	8

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)

ABNT 15469 (2018) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	15:10

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,108		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	12,684	pH:	5,82
Dureza:	2340,34		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra

Observação: Foi realizado ensaio em paralelo com ajuste de pH para 7,02 e foi obtido o mesmo resultado apresentado neste laudo.



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310551/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	7,30	6,61	5,82	6,13

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	2	2	2	3	9	45

Desvios: Não foram observados desvios durante a condução deste ensaio.

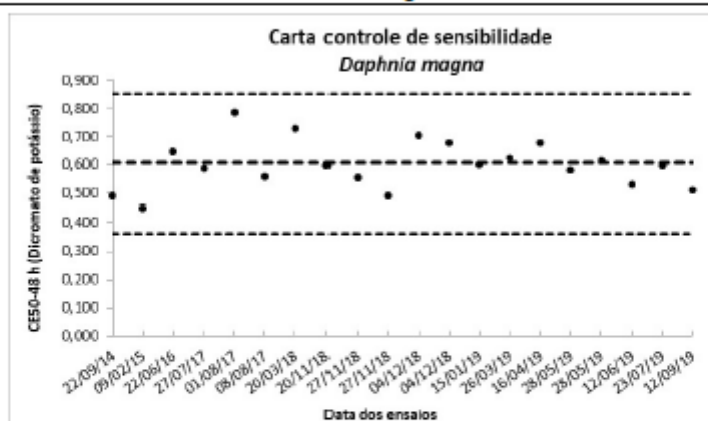
Cálculo estatístico

```

Title: 310551
File:          310551          Transform:  ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment   Ho: Control<Treatment
-----
GROUP  IDENTIFICATION  TRANSFORMED  RANK  CRIT.  SIG
      MEAN              SUM          VALUE  REPS
-----
1      Controle         1.3453       10.00  11     4 *
2      100%             0.2255
-----
Critical values are 1 tailed ( k = 1 )
  
```

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 3 – Relatório de ensaio de toxicidade NaOH pH 8,7



Viamão, 19 de dezembro de 2019

**Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310552/19****Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*****RESUMO DOS RESULTADOS**

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	8

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)
 ABNT 15469 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	15:15

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,108		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	10,993	pH:	6,26
Dureza:	1833,538		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310552/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	7,31	6,50	6,26	6,17

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	2	2	2	2	8	40

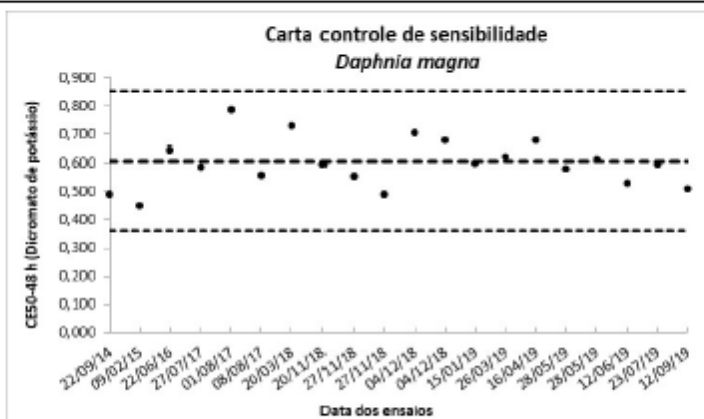
Devios: NÃO foram observados devios durante a condução deste ensaio.

Cálculo estatístico

```

Title: 310552
File: 310552 Transform: ARC SINE (SQUARE ROOT(Y))
Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment
-----
GROUP IDENTIFICATION TRANSFORMED RANK CRIT. SIG
MEAN SUM VALUE REPS 0.05
-----
1 Controle 1.3453
2 100% 0.2255 10.00 11 4 *
-----
Critical values are 1 tailed ( k = 1 )
  
```

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 4 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH)₂ pH 7,0

Viamão, 19 de dezembro de 2019

**Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310553/19****Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*****RESUMO DOS RESULTADOS**

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	8

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)
 ABNT 15469 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	15:20

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,106		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	7,61	pH:	5,53
Dureza:	2554,93		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra

Observação: Foi realizado ensaio em paralelo com ajuste de pH para 7,13 e foi obtido o mesmo resultado apresentado neste laudo.



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310553/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	7,30	6,45	5,53	5,80

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	2	1	2	2	7	35

Devios: Não foram observados devios durante a condução deste ensaio.

Cálculo estatístico

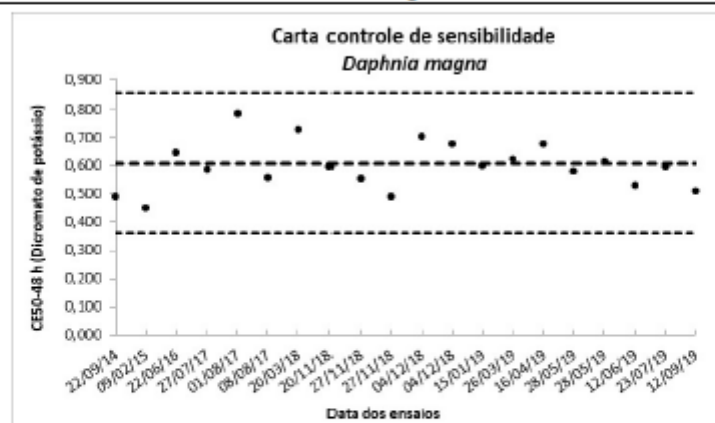
```

Title: 310553
File:          310553          Transform:  ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment      Ho: Control<Treatment
-----
GROUP  IDENTIFICATION  TRANSFORMED  RANK  CRIT.  SIG
      MEAN              SUM          VALUE  REPS  0.05
-----
1      Controle         1.3453       10.00  11     4     *
2      100%             0.2255       10.00  11     4     *
-----
Critical values are 1 tailed ( k = 1 )

```

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 5 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH)₂ pH 8,7

Viamão, 19 de dezembro de 2019

**Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310554/19****Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*****RESUMO DOS RESULTADOS**

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	4

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)
 ABNT 15469 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	00:00

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,108		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	9,302	pH:	6,14
Dureza:	3387,988		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310554/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	7,26	6,66	6,14	5,98

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	1	2	2	1	6	30

Devio: Não foram observados devios durante a condução deste ensaio.

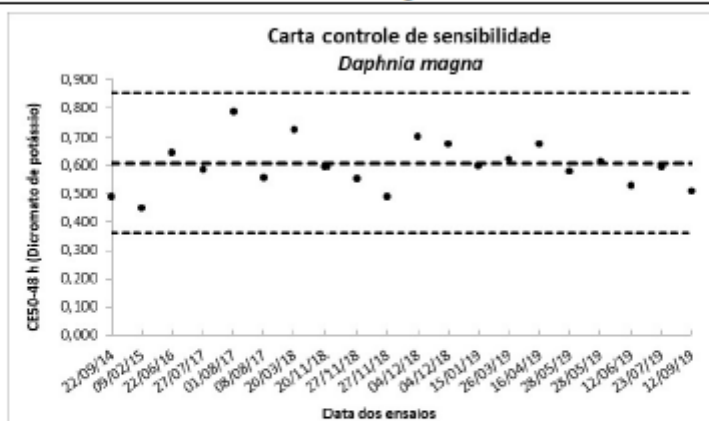
Cálculo estatístico

```

Title: 310554
File: 310554 Transform: ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))
Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment
-----
GROUP IDENTIFICATION TRANSFORMED RANK CRIT. SIG
MEAN SUM VALUE REPS 0.05
-----
1 Controle 1.3453
2 100% 0.2255 10.00 11 4 *
-----
Critical values are 1 tailed ( k = 1 )

```

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 6 – Relatório de ensaio de toxicidade Ca(OH)₂ pH 8,7 + inóculo

Viamão, 19 de dezembro de 2019

**Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310556/19****Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*****RESUMO DOS RESULTADOS**

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	2

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)
 ABNT 15469 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002
 Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	15:00

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,106		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	4,228	pH:	5,54
Dureza:	2542,048		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra

Observação: Foi realizado ensaio em paralelo com ajuste de pH para 7,08 e foi obtido o mesmo resultado apresentado neste laudo.



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310556/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	7,32	6,18	5,54	5,56

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	1	1	1	1	4	20

Desvios: Não foram observados desvios durante a condução deste ensaio.

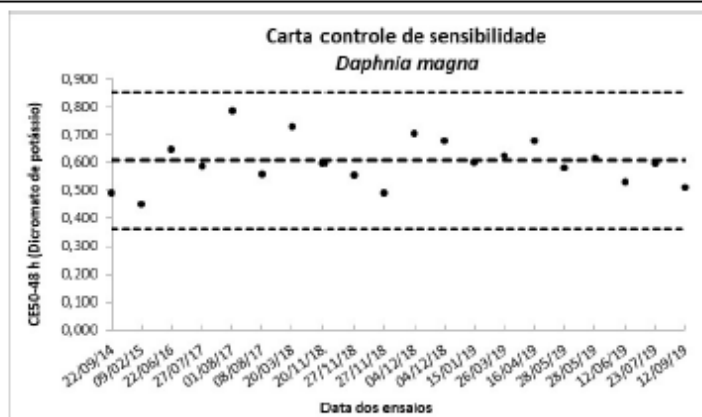
Cálculo estatístico

```

Title: 310556
File:          310556          Transform:  ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))

Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment      Ho: Control<Treatment
-----
GROUP  IDENTIFICATION  TRANSFORMED  RANK  CRIT.  SIG
      MEAN              SUM        VALUE  REPS  0,05
-----
1      Controle        1.3453
2      100%            0.2255      10,00   11     4    *
-----
Critical values are 1 tailed ( k = 1 )
  
```

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensalada.
Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.

ANEXO 7 - Relatório de ensaio de toxicidade $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pH 8,7 + inóculo + macronutrientes



Viamão, 19 de dezembro de 2019



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310550/19

Teste de toxicidade aguda para microcrustáceos *Daphnia magna*

RESUMO DOS RESULTADOS

Resultado	AMOSTRA TÓXICA
CE50-48h	>100%
FT	2

METODOLOGIA

Teste de toxicidade para microcrustáceos realizado conforme OECD - Guideline for Testing of Chemicals. Method 202 "Daphnia sp., Acute Immobilisation Test" (2004)

ABNT 15469 (2016) – Ecotoxicologia aquática – Coleta, preservação e preparo de amostras.

Técnicas estatísticas: USEPA - Short-term methods for estimating acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms - EPA 821-R2-012-2002

Software estatístico: Trimmed Spearman Karber

CONDIÇÕES DE ENSAIO

Temperatura:	20 ± 2°C	Duração:	48 horas
Iluminação:	escuro	Volume de solução:	15 a 20 ml
Nº de réplicas:	4	Nº organismos/replicação:	5

CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

a) Máximo de 10% de imobilidades no controle.

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Data de início:	10/12/2019	Data término:	12/12/2019
Hora de início do ensaio:	15:00	Hora de fim do ensaio:	15:00

ÁGUA DE DILUIÇÃO

Alcalinidade:	31,1	pH:	7,58
Dureza:	212,106		

DADOS DA AMOSTRA BRUTA

Alcalinidade:	24,945	pH:	7,06
Dureza:	2743,866		

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A- Controle	100 mL de água de diluição
B- 100% de amostra	100 mL de amostra



Anexo ao Relatório de Ensaio do item de ensaio - Bq310550/19

RESULTADOS OBTIDOS

Parâmetros físico químicos da amostra				
Identificação	OD (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final
A	7,40	6,27	7,44	6,97
B	6,84	6,69	7,06	6,81

Efeito observado após 48h de exposição - N° de organismos imóveis

Identificação	Réplicas				Imobilidades	
	1	2	3	4	Total	%
A	0	0	0	0	0	0
B	1	1	1	0	3	15

Desvio: Não foram observados desvios durante a condução deste ensaio.

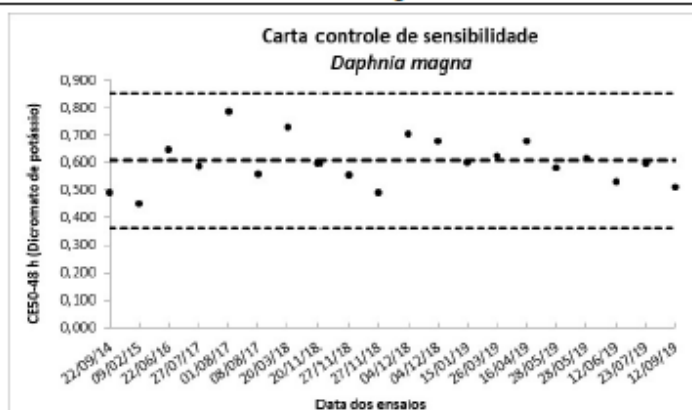
Cálculo estatístico

Title: 310550
 File: 310550 Transform: ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))
 Wilcoxon's Rank Sum Test w/ Bonferroni Adjustment Ho: Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	REPS	SIG
1	Controle	1.3453				
2	100%	0.9966	10.00	11	4	*

Critical values are 1 tailed (k = 1)

Controle da sensibilidade do organismo teste – Carta Controle



Laboratório de Ensaio acreditado pela CGCRE de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0227.

Os resultados contidos nesse documento têm significação restrita e se aplicam exclusivamente à amostra ensaiada.
 Este documento só pode ser reproduzido na íntegra.