



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E BIOCÊNCIAS**

Diego Serrasol do Amaral

**MICROALGAS NA REMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS:**  
**POTENCIAIS E PROCESSOS INTEGRADOS**

Florianópolis

2023

Diego Serrasol do Amaral

**MICROALGAS NA REMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS:  
POTENCIAIS E PROCESSOS INTEGRADOS**

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências da Universidade Federal de Santa Catarina apresentada como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia e Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rubi Rorig

Florianópolis

2023

### Ficha de identificação da obra

Amaral, Diego Serrasol do  
MICROALGAS NA REMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS:  
POTENCIAIS E PROCESSOS INTEGRADOS / Diego Serrasol do Amaral ;  
orientador, Leonardo Rubi Rörig, 2023.  
112 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia e Biociências, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Biotecnologia e Biociências. 2. Biorremediação de  
efluentes. 3. Biotecnologia de algas. 4. Carvão mineral. 5.  
Poluição Aquática . I. Rörig, Leonardo Rubi. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia e Biociências. III. Título.

Diego Serrasol do Amaral

**MICROALGAS NA REMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS:  
POTENCIAIS E PROCESSOS INTEGRADOS**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 31 de Julho de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Rubens Tadeu Delgado Duarte  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Marcus Adonai Castro da Silva  
Universidade do Vale do Itajaí

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Biociências.

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof. Dr. Leonardo Rubi Rörig  
Orientador(a)

Florianópolis, 2023.

Este trabalho é dedicado à minha mãe.

## AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desta dissertação só foi possível devido a dedicação de diversas pessoas, dentre as quais agradeço:

Ao meu orientador, Leonardo, pelos seus incessantes esforços para todo trabalho e pela confiança em mim.

Aos meus colegas do Laboratório de Ficologia - UFSC, pelas diversas conversas e festas que aliviam qualquer carga de trabalho.

Aos professores Paulo e José, pelos diversos conselhos e ideias.

A Giovana pelo apoio, carinho e conversas que melhoram meus dias.

Aos maricultores do bairro Santo Antônio de Lisboa – Florianópolis pelas conchas de ostras doadas.

Ao Laboratório de Química Inorgânica da UNIVALI pelo auxílio em diversas análises.

A Sociedade Assistência aos Trabalhadores do Carvão pelas informações e assistência concedidas.

Ao Grupo de Estudos em Saneamento Descentralizado - UFSC, pelas amostras concedidas.

Aos discentes do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências (PPGBTC), por todo conhecimento transmitido.

Aos discentes da coordenação do PPGBTC/UFSC pelo auxílio em diversos momentos do mestrado.

Aos servidores do PPGBTC/UFSC pelo suporte prestado com excelência.

Aos servidores do Departamento de Botânica – UFSC pelo suporte diário prestado com carinho e excelência.

Aos discentes da coordenação do Departamento de Botânica - UFSC pelo auxílio em diversos momentos do mestrado.

A Universidade Federal de Santa Catarina por disponibilizar uma infraestrutura pública de qualidade.

As agências de fomento à pesquisa CAPES, CNPQ e FAPESC pelo apoio financeiro ao avanço da ciência.

Por último, aos meus pais Adrienne e Marcelo e minha avó Ilda, que são os únicos que provavelmente lerão até os agradecimentos por todo esforço em sempre me apoiar.

*“A real viagem de descoberta não consiste em buscar novas paisagens, mas em ter  
novos olhos”*  
(Marcel Proust)

## RESUMO

### Microalgas na remediação de drenagem ácida de minas: Potenciais e processos integrados

A drenagem ácida de mina (DAM) é um efluente ácido, rico em metais e  $\text{SO}_4^{2-}$  gerado pela mineração de carvão e atualmente seus tratamentos apresentam baixa eficiência e difícil implementação. O presente trabalho descreve um novo processo envolvendo tratamento físico-químico e ficorremediação para DAM e também o potencial de retenção de metais de um tapete algal encontrado crescendo em um fluxo de DAM na região carbonífera de Santa Catarina, Brasil. O processo de tratamento para a DAM, envolveu as seguintes etapas: filtração (utilizando conchas de ostras, visando aumentar o pH do efluente por neutralização), decantação, mistura com esgoto doméstico (ED) e cultivo de microalgas em fotobiorreatores. Foram feitos experimentos prévios para definição das proporções das soluções de DAM:ED e avaliação da capacidade de redução de coliformes e carbono orgânico total do ED devido a mistura com DAM. Ao final do processo os resultados observados foram: aumento do pH em 4 ordens de grandeza, redução de 70% da condutividade, 99,8% de Fe, 66,9% de Mn, 89,38 % de Zn, 73,4 % de Ni, 82,7% de  $\text{SO}_4^{2-}$ , 99,9% de  $\text{PO}_4^{3-}$ , 62,1% de  $\text{NH}_4^+$ , 47% do carbono orgânico total e 99% dos coliformes fecais. Esses resultados demonstram um grande potencial de cotratamento de DAM e ED de maneira sustentável e eficiente. Em paralelo, o tapete algal foi identificado como sendo majoritariamente composto pela alga verde Zygnematophyceae *Mougeotia* sp. Os resultados mostraram que esse tapete algal apresenta elevada capacidade de retenção de metais, principalmente Fe (fator de concentração na biomassa = 606) e que a composição inorgânica desse tapete algal está relacionada com as características do meio.

**Palavras-chave:** Drenagem ácida de minas. Esgoto doméstico. Ficorremediação. Tapete algal. Remoção de metais. Microrganismos extremófilos.



## ABSTRACT

### **Microalgae in acid mine drainage remediation: Potentials and integrated processes**

Acid mine drainage (AMD) is an acid effluent, rich in metals and  $\text{SO}_4^{2-}$  generated by coal mining and currently its treatments have low efficiency and difficult implementation. The present work describes a new process involving physical-chemical treatment and phycoremediation for AMD and the metal retention potential of an algal mat found growing in AMD flows in the coalfield region of Santa Catarina, Brazil. The treatment process for the AMD involved the following steps: filtration (using oyster shells, aiming to increase the pH of the effluent by neutralization), settling, mixing with domestic sewage (DS) and cultivation of microalgae in photobioreactors. Previous experiments were carried out to define the proportions of the AMD:DS solutions and to evaluate the ability to reduce coliforms and total organic carbon in the DS due to the mixture with AMD. At the end of the process, the observed results were: pH increase of 4 orders of magnitude, 70% reduction in conductivity, 99.8% Fe, 66.9 % Mn, 89.38 % Zn, 73.4 % Ni, 82.7%  $\text{SO}_4^{2-}$ , 99.9 % de  $\text{PO}_4^{3-}$ , 62.1 %  $\text{NH}_4^+$ , 47 % total organic carbon and 99 % fecal coliforms. These results demonstrated a great potential for co-treatment of AMD and DS in a sustainable and efficient way. In parallel, the algal mat was identified as being mostly composed by the green alga from class Zygnematophyceae *Mougeotia* sp. The results showed that this algal mat has a high metal retention capacity, mainly Fe (biomass concentration factor = 606) and that the inorganic composition of this algal mat is related to the characteristics of the environment.

Keywords: Acid mine drainage. Domestic sewage. Phycoremediation. Algal Mat. Metal removal. Extremophile microorganisms.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1 - Região da Bacia Carbonífera de Santa Catarina e a extensão dos seus corpos hídricos, SC, Brasil 21
- Figura 1.2 – Características metabólicas dos microorganismos procarióticos representativos encontrados em ecossistemas de DAM, incluindo suas capacidades na ciclagem de ferro, enxofre, nitrogênio e carbono. Informações são obtidas por abordagens dependentes de cultivo e/ou previstas a partir de dados ômicos. Adaptado de Chen et al., 2016 24
- Figura 2.1 – Diagrama conceitual do processo de cotratamento de drenagem ácida de mina (DAM) e esgoto doméstico (ED) proposto no presente estudo 52
- Figura 2.2 – Mapa da área de estudo, Brasil, Santa Catarina, Siderópolis, Lagoa Língua do Dragão 54
- Figura 2.3 – (A) Estrutura dos filtros de conchas de ostras utilizados na etapa de tratamento físico-químico da DAM. (B) Aspecto das conchas do meio suporte do filtro (conchas de ostras trituradas). (C) Fotografia dos filtros mostrando o aspecto da DAM antes e depois do processo de filtração 55
- Figura 2.4 – Região da Bacia Carbonífera de Santa Catarina e a extensão dos seus corpos hídricos, SC, Brasil. Comportamento do pH (A) e da condutividade (B) em função do tempo de detenção hidráulica (TDH) da DAM bruta pelo filtro de conchas de ostras 61
- Figura 2.5 – Taxas de crescimento microalgal ao longo de 120 h nas diferentes tratamentos de esgoto doméstico e DAM selecionadas 63
- Figura 2.6 – Variação do pH (A) e da condutividade (B) nas diferentes misturas ou tratamentos utilizadas no teste preliminar de crescimento microalgal ao longo de 120 h de cultivo 64
- Figura 2.7 – Variação do pH (A) e da condutividade (B) em diferentes misturas de ED e DAM filtrada, ao longo dos 10 dias de cultivo 65
- Figura 2.8 – Taxas de crescimento microalgal ao longo de 10 dias de cultivo para as misturas de esgoto doméstico e DAM. E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>: 0,492, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub>:0,452, E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>:0,47. As barras representam o desvio padrão da média (n=3) 65
- Figura 2.9 – Concentrações iniciais e finais de amônio – N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (A) e ortofosfato – P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (B) nos tratamentos formadas pela mistura de esgoto doméstico e DAM filtrada ao longo dos 10 dias de cultivo microalgal. As barras representam o desvio padrão da média (n=3). Todas as variações foram significativas (p<0,05) 66

Figura 2.10 – Concentrações iniciais e finais de metais nas soluções formadas pela mistura de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (Df) ao longo dos 10 dias de cultivo. As barras representam o desvio padrão da média (n = 3). 67

Figura 2.11 – Concentração de coliformes fecais (NMP 100 mL<sup>-1</sup>) antes e depois da incubação das misturas de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D) ao longo de 10 dias de cultivo. As barras representam o desvio padrão da média (n = 3). Todas as variações foram significativas (p < 0,05). 67

Figura 2.12. Concentração de sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) antes e após 10 dias de crescimento microalgal para diferentes tratamentos de mistura entre esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (Df). As barras representam o desvio padrão da média (n = 3). 68

Figura 2.13. Variação de coliformes fecais em três diferentes tratamentos de misturas de esgoto doméstico (E) e DAM bruta (D<sub>b</sub>) ao longo de 6 horas de incubação. 69

Figura 2.14. Variação da concentração de carbono orgânico total (COT) em 3 tratamentos de mistura de esgoto doméstico (E) e DAM bruta (D<sub>b</sub>) ao longo de 6 h de incubação. 69

Figura 3.1. Mapa da área de estudo na região de Urussanga, Santa Catarina, Brasil, indicando o ponto de coleta do material algal. 81

Figura 3.2. Aspecto dos tapetes algais coletados e processados. (A) Local de coleta mostrando o fluxo de DAM e os tapetes algais; (B) detalhe das algas filamentosas no local de coleta; (C) aspecto dos filamentos coletados; (D) fotomicrografia da alga predominante em 200 X; (E) fotomicrografia da alga predominante em 400 X; (F) aspecto da biomassa seca e pulverizada; (G) aspecto das cinzas obtidas após calcinação da biomassa seca; (H) aspecto da biomassa fresca coletada. 85

Figura 3.3 Cladograma de identificação taxonômica da amostra de DNA extraída do tapete algal a partir do sequenciamento de Sanger. 86

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1.1 – Sumarização dos tratamentos convencionais de drenagem ácida de mina de carvão. 25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Proporções de DAM bruta (DAM <sub>b</sub> ), DAM filtrada (DAM <sub>f</sub> ), esgoto doméstico (ED) e meio de cultura nas soluções avaliadas para o teste preliminar de crescimento microalgal. Nas siglas das soluções, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e <i>b</i> e <i>f</i> indicam bruta e filtrada, respectivamente.	56
Tabela 2.2. Características da drenagem ácida de mina de carvão utilizada nos experimentos de cotratamento de DAM e esgoto doméstico.	60
Tabela 2.3 Concentração de metais e SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> antes e depois da filtração.	61
Tabela 2.4 –Características físico-químicas dos tratamentos feitas com mistura de DAM e esgoto doméstico. Nas siglas dos tratamentos, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e <i>b</i> e <i>f</i> indicam bruta e filtrada, respectivamente.	62
Tabela 2.5. Dados de caracterização dos componentes de DAM em diversas partes do mundo e os limites estabelecidos pela legislação brasileira.	71
Tabela 3.1 Sequencia dos <i>primers</i> utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento do marcador <i>tufA</i> .	83
Tabela 3.2. Resultados das análises físico-químicas da amostra de drenagem ácida de mina onde o tapete algal foi encontrado.	86
Tabela 3.3. Características da biomassa dos tapetes algais coletados e processados na área de DAM.	89
Tabela 3.4 Dados de caracterização dos componentes de DAM em diversas partes do mundo e os limites estabelecidos pela legislação brasileira.	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DAM	Drenagem ácida de mina
DAM <sub>f</sub>	Drenagem ácida de mina filtrada
DAM <sub>b</sub>	Drenagem ácida de mina bruta
ED	Esgoto Doméstico
FeS <sub>2</sub>	Dissulfeto de ferro (pirita)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Sulfato
Fe	Ferro
Al	Alumínio
Ni	Níquel
Zn	Zinco
Mn	Manganês
As	Arsênio
Hg	Mercúrio
Pb	Chumbo
Se	Selênio
Co	Cobalto
Cd	Cádmium
Ti	Titânio
Sb	Antimônio
Fe <sup>2+</sup>	Ferro ferroso
Fe <sup>3+</sup>	Ferro férrico
BCSC	Bacia Carbonífera de Santa Catarina
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
CaO	Cal
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de Cálcio
Ca (OH) <sub>2</sub>	Cal hidratada
NH <sub>3</sub>	Amônia anidra
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ion Amônia
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Ortofosfato
NaOH	Hidróxido de Sódio
Cu	Cobre

ABC Dessalinização Alcalina de Bário e Cálcio

P/V relação de peso e volume

PVC Policloreto de Vinil

SRB Bactérias redutoras de sulfato

H<sub>2</sub>S Sulfeto de Hidrogênio

ETE Estação de tratamento de esgoto

RPM rotações por minuto

DQO Demanda química de oxigênio

DBO Demanda bioquímica de oxigênio

ADP Difosfato de adenosina

ATP Trifosfato de adenosina

NADH Nicotinamida adenina

Fd Ferredoxina

NADPH Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

OH Hidroxila

COOH Carboxila

NH<sub>2</sub> Amino

SH Sulfidril

EPS Exopolissacarídeos

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\mu$  Taxa de crescimento algal



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>19</b>
1.1	Drenagem ácida de mina de carvão e a situação de Santa Catarina	19
1.2	Formação da Drenagem Ácida de Mina de Carvão	21
1.3	Tratamentos convencionais de DAM	24
1.3.1	Tipos de tratamento	24
1.3.2	Medidas de mitigação da geração de DAM	26
1.3.3	Remediação de DAM	28
1.3.4	Métodos ativos de remediação de DAM	28
1.3.5	Métodos passivos de remediação de DAM	35
1.4	Esgoto doméstico	38
1.5	Tratamentos convencionais de ED	40
1.6	Cotratamento de DAM e ED	42
1.7	Ficorremediação de DAM e ED	46
<b>1.8</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>48</b>
1.8.1	Objetivo geral	48
1.8.2	Objetivos específicos	48
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO 2: COTRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINA E ESGOTO DOMÉSTICO POR PROCESSOS FÍSICO-QUÍMICOS SEGUIDOS DE FICORREMEDIAÇÃO</b>	<b>49</b>
<b>2.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>50</b>
<b>2.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>51</b>
2.2.1	Resumo geral da abordagem metodológica	51
2.2.2	Área de estudo	53
2.2.3	Amostragem e caracterização dos efluentes	53
2.2.4	Tratamento físico-químico da DAM	54
2.2.5	Misturas de esgoto e DAM e teste preliminar de crescimento microalgal	56
2.2.6	Experimento de ficorremediação – nutrientes, metais, sulfatos e coliformes	58

2.2.7	Efeito da DAM bruta no decaimento de coliformes e matéria orgânica do esgoto doméstico.	58
2.2.8	Análises químicas e colimetria	59
2.2.9	Tratamento de dados	59
<b>2.3</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>59</b>
2.3.1	Características dos efluentes – DAM e ED	59
2.3.2	Tratamento físico-químico da DAM	60
2.3.3	Crescimento algal em misturas de DAM e Esgoto doméstico – teste preliminar.	61
2.3.4	Experimento de fitorremediação	64
2.3.5	Variáveis físico-químicas	64
2.3.6	Taxas de crescimento algal	65
2.3.7	Remoção de nutrientes	65
2.3.9	Remoção de metais	66
2.3.10	Redução de coliformes fecais	67
2.3.11	Redução de $\text{SO}_4^{2-}$	68
2.3.12	Decaimento de coliformes e Carbono Orgânico Total por efeito da DAM bruta	68
<b>2.4</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>69</b>
2.4.1	Características da DAM gerada na área de estudo	69
2.4.2	Efeito do filtro de conchas de ostras sobre as características da DAM	71
2.4.3	Efeitos das misturas de ED e DAM	73
2.4.4	Efeitos do processo de fitorremediação	74
2.4.5	Efeitos da mistura de DAM bruta e esgoto doméstico	76
<b>2.5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>77</b>
<b>3</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO DE UM TAPETE DE ALGAS FILAMENTOSAS EXTREMÓFILAS OCORRENTE EM DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO NA REGIÃO DE CRICIÚMA, SC</b>	<b>78</b>
<b>3.1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>79</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>80</b>

3.2.1	Caracterização da área de estudo	80
3.2.2	Coleta e processamento de amostras	81
3.2.3	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do material algal	82
3.2.4	Caracterização da biomassa	82
3.2.5	Análises de metais	83
3.2.6	Identificação taxonômica	83
<b>3.3</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>84</b>
3.3.1	Características físico-químicas e químicas da água	84
3.3.2	Identificação morfológica e molecular do material algal	84
3.3.3	Caracterização da biomassa algal	86
<b>3.4</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>88</b>
3.4.1	Características da DAM gerada na área de estudo	88
3.4.2	Identificação do tapete algal	89
3.4.3	Retenção de metais na biomassa e seus potenciais para a biorremediação	90
<b>3.5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>92</b>
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>93</b>

## 1 CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Drenagem ácida de mina de carvão e a situação de Santa Catarina

Em todo o mundo a revolução energética não está apenas alterando o equilíbrio geopolítico internacional, mas também o cenário econômico e ambiental das comunidades produtoras de energia. Nesse cenário destaca-se a mineração de carvão, que é uma atividade extrativista de grande importância para a economia mundial, mas impacta no longo prazo de forma negativa as regiões produtoras, quando seus passivos ambientais não são remediados (BETZ *et al.*, 2015). O impacto dos passivos ambientais gerados por essa atividade pode ser imenso e o problema se alastra pela falta de tratamento e de monitoramento das zonas de mineração. Uma das principais preocupações ambientais relacionadas à mineração de carvão é a contaminação das águas superficiais e subterrâneas, que ocorre devido a formação da drenagem ácida de mina de carvão (DAM), efluente gerado durante e após o processo de mineração (KONTOPOULOS *et al.*, 1998; SIMATE; NDLOVU, 2014). A DAM é o principal problema ambiental relacionado à mineração no mundo (KEFENI *et al.*, 2017). Segundo Simate e Ndlovu (2014) quando a DAM não é tratada, pode ocorrer a contaminação de cursos de água superficiais e subterrâneos, e além disso, esse efluente pode limitar a vida de diversas espécies e a saúde de todos os componentes ecológicos dos ambientes afetados.

Durante a mineração, diversos minerais são expostos na forma de rejeitos da extração do carvão e esses, normalmente, contêm quantidades variáveis de pirita ( $\text{FeS}_2$ ). Após a mineração e a exposição dos rejeitos ao oxigênio atmosférico, água e bactérias aeróbicas, ocorre a oxidação da pirita presente nos minerais expostos e a formação da DAM. Esse efluente apresenta um pH fortemente ácido, grande quantidade de sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e concentrações elevadas de metais, como ferro (Fe), alumínio (Al) e manganês (Mn). Também podem ser encontrados, em menor quantidade, metais ou metalóides como: arsênio (As), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e selênio (Se) (KONTOPOULOS *et al.*, 1998; ROSE; CRAVOTTA, 1998).

Durante o processo oxidativo que resulta no escoamento da DAM, a primeira reação importante é a oxidação da pirita em ferro dissolvido, sulfato e hidrogênio. Se o ambiente circundante for suficientemente oxidante (o que depende da concentração de  $\text{O}_2$ , pH e atividade bacteriana), grande parte do ferro dissolvido (ferroso,  $\text{Fe}^{2+}$ ) é oxidado a ferro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Em valores de pH entre 2,3 e 3,5, o  $\text{Fe}^{3+}$  precipita como  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  e jarosita, deixando pouco  $\text{Fe}^{3+}$  em solução enquanto simultaneamente diminui o pH (AKCIL *et al.*, 2006). Outros oxidantes e minerais de sulfato têm diferentes vias de reação, estequiometrias e taxas, mas a pesquisa sobre

essas variações é escassa. A formação de DAM é incrementada após o término da operação de mineração, porque as bombas usadas para manter o lençol freático afastado das minas subterrâneas e facilitar as atividades de mineração são desligadas, levando à elevação do nível do lençol freático, que então reage com minerais de sulfato expostos em rochas das paredes das galerias de mineração (SONI *et al.*, 2014).

Esse efluente da mineração de carvão contém uma grande quantidade de substâncias tóxicas, como cianetos e metais pesados, que podem causar diversos problemas de saúde aos humanos e impactos negativos a toda a biodiversidade (AZAPAGIC, 2004). Como a maioria das tecnologias de tratamento disponíveis são ineficientes ou muito caras, se tornou comum deixar uma quantidade significativa de DAM sem tratamento e à deriva, contaminando bacias hidrográficas inteiras (DIZ, 1997).

Na Bacia Carbonífera de Santa Catarina (BCSC), existem diferentes pontos de extração de carvão mineral que foram desativados e geram incessantemente DAM, devido a galerias alagadas e a enormes pilhas de rejeitos expostos na superfície. As bacias dos rios Tubarão, Urussanga e Araranguá são as principais afetadas, recebendo diretamente DAM das minas de carvão. São contabilizados 134 locais de minas a céu aberto cobrindo uma área total de 2.964 ha, 115 áreas de depósito de resíduos em um total de 2.734 hectares, 77 locais em 58 hectares com piscinas ácidas e centenas de minas subterrâneas que geram esse efluente (ABMC, 2008). O trabalho de remediação desse passivo ambiental inclui o uso de corretivos, como cal ou cinzas de combustão de linhita, fertilizantes inorgânicos e orgânicos e, em algumas ocasiões, o espalhamento de uma camada de solo superficial. Os diferentes tipos de corretivos e os procedimentos utilizados originaram uma grande variedade de condições físico-químicas nos corpos hídricos da região (SIECESC, 2008). Os problemas ambientais são resultado de 120 anos de atividade de mineração e outras fontes de poluição. Em 1980, a Bacia Carbonífera de Santa Catarina (figura 1.1) foi designada como “Área Nacional Crítica para Controle de Poluição e Conservação Ambiental”, consequência da mineração de carvão (ALEXANDRE, 1999; ALEXANDRE; KREBS, 1995; GOTHE, 1993). Em 2000, uma determinação do Judiciário Federal em Criciúma - SC ordenou que as empresas estatais estabelecessem um projeto de recuperação em 6 meses que seria implementado em 3 anos e abrangesse os danos causados pelas atividades de mineração de carvão em toda a região carbonífera do sul do estado (SIECESC, 2008).

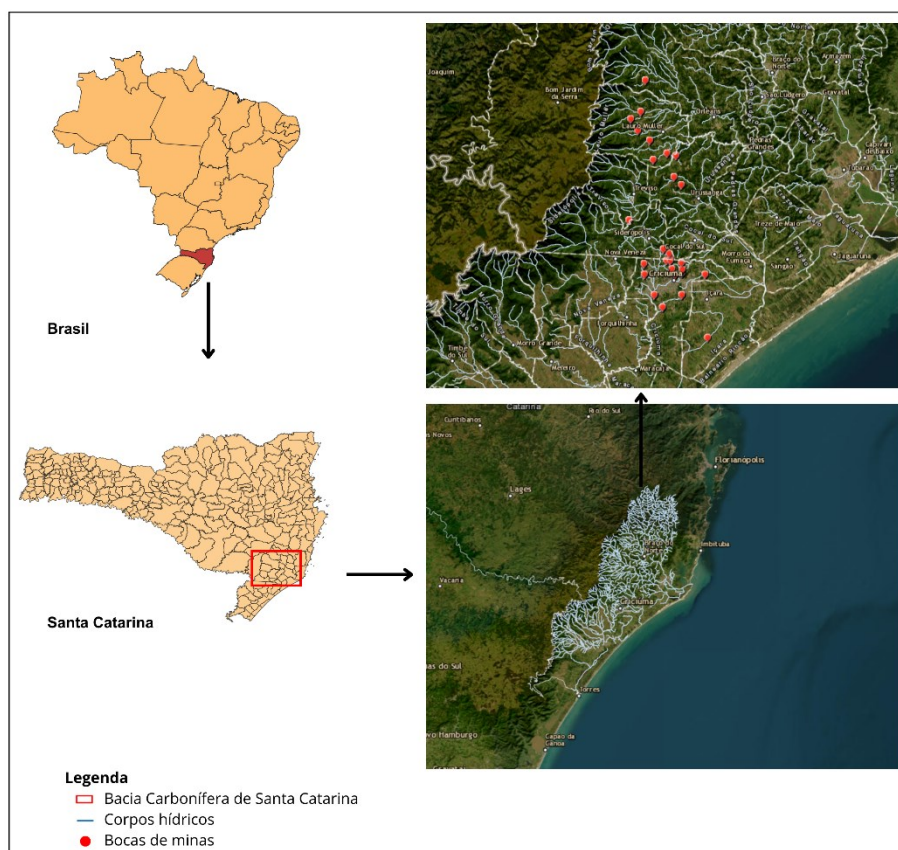


Figura 1.1 Região da Bacia Carbonífera de Santa Catarina e a extensão dos seus corpos hídricos, SC, Brasil.

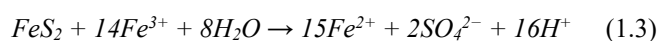
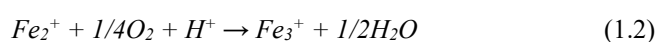
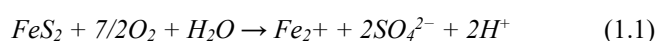
Os primeiros estudos científicos sobre poluição ambiental na região datam da década de 90, alguns com a participação de órgãos governamentais (ALEXANDRE, 1999; ALEXANDRE; KREBS, 1995; GOTHE, 1993). Desde então, outros trabalhos relacionados à DAM na região foram publicados, como: modelagem de fontes de contaminação (GOMES *et al.*, 2011), toxicidade de recursos hídricos (LATTUDA *et al.*, 2009) e método de dessulfurilação de rejeitos (DO AMARAL FILHO *et al.*, 2017), entre outros. Esses estudos trouxeram contribuições significativas na caracterização da gravidade do problema ambiental da região carbonífera de Santa Catarina, entretanto, ainda faltam novas possibilidades de tratamentos eficientes e viáveis a esse problema.

## 1.2 Formação da Drenagem Ácida de Mina de Carvão

A formação da DAM é uma sequência de processos biogeoquímicos complexos e dissolução de minerais que pode ocorrer em locais de mineração em operação e abandonados,

túneis, poços abertos, pilhas de carvão extraído e rejeitos (SIMATE; NDLOVU, 2014; DOLD, 2014). Essa formação pode ser dividida em 3 etapas que ocorrem durante todo processo de mineração. A primeira etapa ocorre na fase de extração, onde há o acúmulo de rejeitos da mineração na superfície. De acordo com Dold (2014), os problemas ambientais relacionados à formação de DAM nessa etapa são a presença de altas concentrações de sulfato e/ou a presença de elementos como Mo e As. Com o término das operações relacionadas à mineração e a aglomeração de rejeitos ricos em pirita, inicia-se a segunda etapa, a oxidação de sulfatos, que resulta na formação de uma zona de oxidação ácida e uma zona rica em ferro ferroso localizada abaixo da zona de oxidação. A zona rica em ferro ferroso tem capacidade de oxidação e reoxidação de componentes presentes na superfície, produzindo o primeiro sinal visível de DAM, a precipitação de ferridrita e acidificação simultânea. O consumo do potencial de neutralização dos minerais de ganga (minerais sem valor econômico) pela acidificação da DAM e a subsequente saída de lixiviados ácidos e ricos em metais pesados dos rejeitos por escoamento é o passo final na evolução de um sistema de formação de DAM (DOLD, 2014).

Para compreender como um todo a formação da DAM é necessário antes compreender como ocorre o processo de oxidação dos compostos sulfatados. O mineral de sulfato mais comum é o  $FeS_2$ , e sua oxidação ocorre em três etapas principais, a oxidação da pirita (equação 1.1), a oxidação do ferro ferroso (equação 1.2), a hidrólise e a precipitação de complexos férricos e minerais (equação 1.3) (MOSES *et al.*, 1987; EHRLICH, 1996; NORDSTROM; JENNE; BALL, 1979), descritas nas seguintes equações:



Pode-se detalhar essas equações em relação aos fatores bióticos e abióticos que interferem nelas. A equação 1 ocorre na presença de oxigênio atmosférico, quando os rejeitos são expostos. Silver (1985), descreve que a pirita é oxidada na presença de bactérias quimiolitotróficas oxidantes e condições aeróbicas, formando ácido sulfúrico e solubilizando sulfato férrico em pH inferior a 3,5. A equação 2, a oxidação do ferro ferroso a ferro férrico, pode ocorrer pela interação de fatores abióticos, e é acelerada em condições de baixo pH pela atividade

microbiológica, gerando como produto final  $\text{Fe}^{3+}$ . Após formado, o  $\text{Fe}^{3+}$  atua como o oxidante primário da pirita, na equação 3, ao invés do oxigênio, uma vez que o ferro férrico oxida mais rapidamente a pirita (MOSES *et al.*, 1987; EHRLICH, 1996; NORDSTROM; JENNE; BALL, 1979). Em pH inferior a 3, a oxidação da pirita pelo ferro férrico é cerca de dez a cem vezes mais rápida do que pelo oxigênio (DOLD, 2014). Em condições abióticas, ou seja, sem a interferência de microrganismos, a taxa de oxidação da pirita pelo ferro férrico é controlada pela taxa de oxidação do ferro ferroso, que diminui rapidamente com a diminuição do pH.

Os minerais primários que compõem as rochas extraídas também têm grande influência nos processos de oxidação e formação da DAM. Isso foi demonstrado em experimentos que estudam a taxa de reação química feitos por Rimstidt (1994, 2004), evidenciando que as taxas de formação da DAM são diferentes dependendo de quais sulfetos estão sendo oxidados por  $\text{Fe}^{3+}$  e o potencial revestimento de hidróxido de ferro.

Os microrganismos aceleram a reação de oxidação da pirita pela geração do ferro férrico (equação 2) (BAKER; BANFIELD, 2003). Esta reação necessita de pH inferior a 4 e oxigênio preferencialmente de origem biológica, ou seja, produzido por microrganismos. Bactérias como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, que estão presentes em abundância nesse ambiente, utilizam compostos sulfatados como fonte de energia, produzindo ácido sulfúrico e oxidando  $\text{Fe}^{2+}$  até  $\text{Fe}^{3+}$ . Assim, essa reação retroalimenta o ciclo de reação de oxidação da formação de DAM, fornecendo  $\text{Fe}^{3+}$  para a oxidação da pirita (CHI *et al.*, 2006).

Sabe-se que há microrganismos além de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, como o *Leptospirillum ferrooxidans*, que obtêm energia oxidando  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  a partir de sulfatos e dessa forma atuam também na formação de DAM, catalisando a reação de oxidação da pirita e atuando em outros ciclos biogeoquímicos (TORMA, 1977). Em comparação com a oxidação abiótica, esses microrganismos podem aumentar a taxa de reação em até 100 vezes (SINGER; STUMM, 1970). Baker e Banfield (2003) demonstram a existência de uma complexa relação entre a diversidade de comunidades microbianas da DAM e a relativa função no processo oxidativo. Os táxons mais estudados nesse sentido são *Acidithiobacillus* spp., oxidantes de ferro e/ou enxofre (WILLIAMS; KELLY, 2013; HEDRICH; JOHNSON, 2013) e *Leptospirillum* spp. (TYSON *et al.*, 2005; GOLTSMAN *et al.*, 2013), seguido por *Ferrovum* spp. (Betaproteobacteria), uma das principais populações oxidantes de ferro em condições de pH menos restritivas (HALLBERG *et al.*, 2006; TAN *et al.*, 2009). Diversas abordagens meta-ômicas tem contribuído para a compreensão das funções microbianas na formação de DAM e



produzido novas perspectivas sobre os tratamentos desse efluente (figura 1.2) (CHEN *et al.*, 2016).

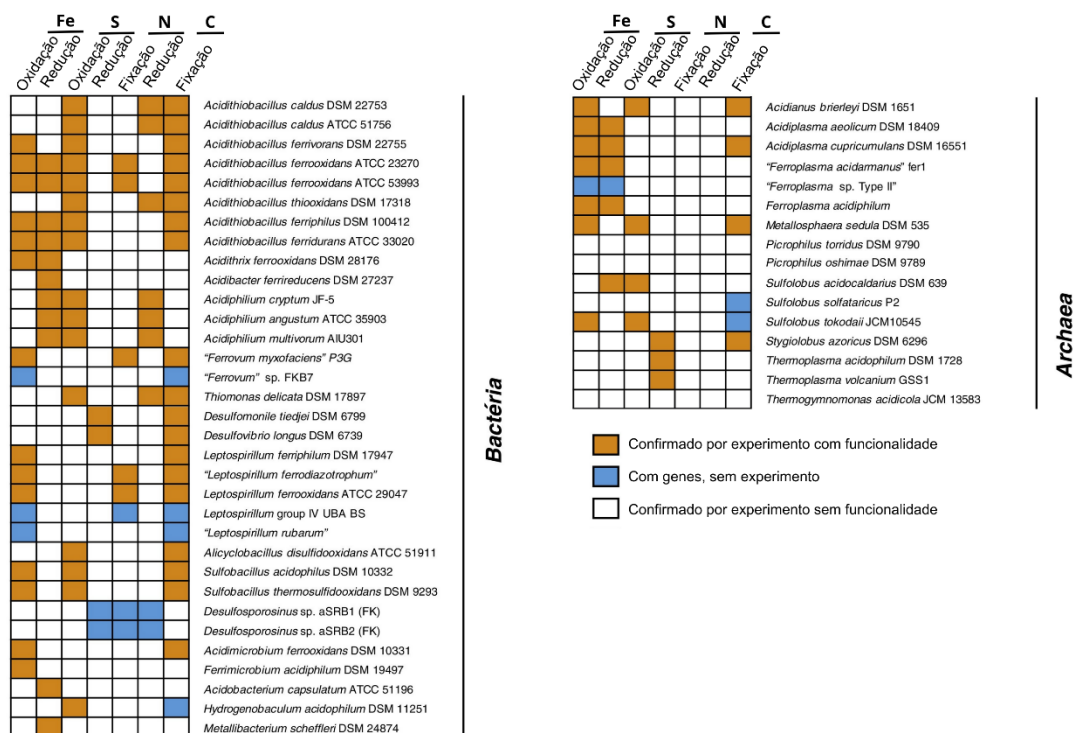


Figura 1.2. Características metabólicas dos microorganismos procarióticos representativos encontrados em ecossistemas de DAM, incluindo suas capacidades na ciclagem de ferro, enxofre, nitrogênio e carbono. Informações são obtidas por abordagens dependentes de cultivo e/ou previstas a partir de dados ômicos. Adaptado de Chen *et al.*, 2016.

## 1.1 Tratamentos convencionais da DAM

### 1.3.1 Tipos de tratamento

O tratamento da drenagem ácida de mina ainda é um grande desafio e uma parte significativa dos custos da mineração. Como a geração desse efluente é inevitável em zonas de mineração de rochas sulfatadas, se não for gerenciada corretamente, pode ser um problema ambiental de longo prazo. Atualmente, os tratamentos disponíveis apresentam limitações em relação à eficácia na remoção de metais e sulfato, podendo não atender aos padrões de qualidade da água estabelecidos pela legislação. Os métodos convencionais de tratamento de drenagem ácida podem ser classificados em duas categorias: mitigação da geração e remediação (quadro 1.1). Os tratamentos de mitigação visam evitar a geração de DAM, enquanto os tratamentos de remediação, que podem ser divididos em ativos e passivos, combinam abordagens físicas,

biológicas e químicas para minimizar a toxicidade da DAM e evitar a propagação desse efluente. Os objetivos desses dois tipos de tratamentos são reduzir a acidez e as concentrações de metais tóxicos, aumentar o pH, diminuir as concentrações de sulfato e salinidade (JOHNSON; HALLBERG, 2005; AKCIL; KOLDAS, 2006; SKOUSEN *et al.*, 2017, 2019).

Tipo de tratamento	Nome	Princípio do método	Referência
<b>Mitigação</b>	Selamento de mina	Evitar contato com O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O	Johnson e Hallberg, 2005
	Armazenamento subaquático de resíduos	Evitar contato com O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O	Li <i>et al.</i> , 1997
	Camada de cobertura seca	Evitar contato com O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> O	Demers <i>et al.</i> , 2016
	Adição de materiais alcalinos aos rejeitos	Precipitar o Fe <sup>3+</sup> como fosfato férrico e criar uma camada protetora	Evangelou, 1998
	Biocidas	Inibir a atividade de bactérias oxidantes	Schippers <i>et al.</i> , 2001
	Adição de agentes químicos	Elevação do pH	Maree e Du Plessis, 1994
	Adsorção	Remover os metais utilizando uma matriz adsorvente	Fu e Wang, 2011
	Membranas	Ultrafiltração e osmose reversa	Ricci <i>et al.</i> , 2015
	Troca Iônica	Redução de metais em uma resina	Gaikwad <i>et al.</i> , 2010
	Dessalinização Alcalina de Bário e Cálcio	Neutralização, remoção de sulfato e processamento do lodo	Mulopo, 2015
<b>Ativo</b>	Neutralização com subprodutos industriais alcalinos	Elevação do pH	Tolonen <i>et al.</i> , 2014
	Neutralização com minerais	Elevação do pH	Falayi e Ntuli, 2014
	Neutralização com conchas	Elevação do pH e adsorção	Masukume <i>et al.</i> , 2014
	Adsorção em cascas marinhas	Adsorção de metais	Nunez-Gomez <i>et al.</i> , 2019
	Biorreatores SRB	Redução de sulfato e precipitação de metais	Rambabu <i>et al.</i> , 2020
<b>Passivo</b>	Wetlands	Processos biogeoquímicos naturais de zonas úmidas	Nguegang <i>et al.</i> , 2021
	Drenos anóxicos de calcário	Neutralização anaeróbica por calcário	Alcolea <i>et al.</i> , 2012
	Canais abertos de calcário	Neutralização aeróbica por calcário em lagoas	Wolfe e Hedin, 2010
	Leitos de lixiviação de calcário	Neutralização aeróbica por calcário	Alcolea <i>et al.</i> , 2012

---

Quadro 1.1 Sumarização dos tratamentos convencionais de drenagem ácida de mina de carvão.

### 1.3.2 Medidas de mitigação da geração de DAM

Considerando que a formação de DAM ocorre na presença de oxigênio e água, é possível inferir que a exclusão de um ou ambos os elementos podem resultar na prevenção ou minimização da produção de DAM. Devido a isso, uma prática comum, é recorrer ao selamento e/ou inundação de minas subterrâneas e desativadas. O oxigênio dissolvido nas águas que inundam as galerias subterrâneas é consumido pelos microrganismos, e a vedação da mina impede a reposição desse oxigênio. No entanto, essa vedação é eficaz apenas quando a localização de todos os poços é conhecida e não há influxo de água contendo oxigênio (JOHNSON; HALLBERG, 2005). Outra maneira de reduzir a formação de drenagem ácida é armazenando os resíduos gerados na mineração embaixo da água. De acordo com Li *et al.* (1997), o armazenamento subaquático pode ser utilizado para o descarte e acondicionamento de desses rejeitos. Samad e Yanful (2011), descreveram uma profundidade de 1,5m para esse armazenamento reduzir a geração de DAM.

Outro ponto é que a eficácia das coberturas de água pode ser melhorada ao cobrir os rejeitos sulfatados com uma camada de sedimento ou material orgânico junto de uma camada seca. Utiliza-se na cobertura desses rejeitos solos argilosos, resíduos oxidados, substratos alcalinos, resíduos orgânicos, solos e materiais neutralizantes (LOTTERMOSER, 2010; OLDS *et al.*, 2012). Um estudo feito por Demers *et al.* (2016), realizado durante 4 anos em campo junto com uma análise de laboratório de 500 dias, demonstrou que uma mistura de solo e lodo pode ser utilizada como uma barreira eficiente de oxigênio para prevenir a formação de DAM em depósitos de rejeitos. Entretanto, a camada de cobertura, geralmente formada a partir de misturas contendo argila, pode ser menos eficaz em áreas que experimentam estações secas e úmidas agudas, devido a rachaduras nessa camada (JOHNSON; HALLBERG, 2005).

Uma abordagem alternativa de mitigação foi proposta por Mehling *et al.* (1997), visando minimizar e otimizar o sistema de vedação dos rejeitos. Esse método consiste na geração de rejeitos menos tóxicos por meio da mistura de materiais geradores e alcalinizadores de DAM. Essa abordagem pode ser feita a partir da adição de fosfatos sólidos, como a apatita, aos resíduos de mineração para precipitar o  $\text{Fe}^{3+}$  como fosfato férrico, reduzindo assim o seu potencial oxidante. No entanto, a inibição da oxidação da pirita pode ser apenas temporária devido ao

revestimento dos minerais de fosfato pelo ferro precipitado (EVANGELOU, 1998). Uma alternativa desenvolvida por Evangelou *et al.* (1998), é a aplicação de fosfato solúvel com peróxido de hidrogênio. O peróxido funciona como oxidante da pirita e produz  $Fe^{3+}$ , que reage com o fosfato para produzir uma camada protetora na superfície dos rejeitos.

Em relação a outros métodos mitigadores da geração de DAM, pode-se citar os que visam reduzir a atividade de bactérias litotróficas oxidantes de ferro e enxofre que têm um papel fundamental na geração de DAM. Nesse sentido, testes em escala de laboratório e de campo foram realizados para inibir a atividade microbiana em rejeitos minerais utilizando biocidas. A aplicação de surfactantes aniônicos, como dodecil sulfato de sódio (SDS), que são altamente tóxicos para esse grupo de microrganismos, é uma escolha viável. Entretanto, a eficácia das aplicações de biocidas é altamente variável, proporcionando apenas um controle de curto prazo do problema e exigindo aplicações repetidas dos produtos químicos (LOOS *et al.*, 1989). Schippers *et al.* (2001), testaram o efeito biocida do SDS e camadas de vedação alcalinas, em resíduos. O SDS foi comprovado como ativo contra as bactérias oxidantes geradoras de DAM, as camadas alcalinas causaram um aumento do pH, mas uma diminuição do número de células foi medida apenas nas camadas adjacentes do minério, mas não em todo o corpo do minério. Em outro trabalho Sand *et al.* (2007), realizaram experimentos durante três anos visando controlar a formação de DAM em três tipos de rejeitos de minas ricas em pirita: material rochoso envelhecido de 6 anos, minério de baixo teor recém-quebrado e classificado e material de rejeito não intemperizado. Nesse estudo o uso do SDS reduziu parcialmente a atividade e o número de bactérias oxidantes de sulfetos metálicos, como, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mas não eliminou totalmente essas bactérias. Como resultado desse experimento, a liberação de metais e sulfato dos rejeitos não foi significativamente reduzida. Outro teste, nesse mesmo trabalho, foi feito utilizando o biocida isotiazolinona e reduziu a liberação de Cu, Zn, Fe e sulfato entre 5% e 50% em diferentes tipos de rejeitos de minas. Por fim, nesse estudo o uso da cobertura de material orgânico alcançou uma redução moderada da liberação de metais pesados e sulfato do material rochoso envelhecido de 6 anos, Cu foi reduzido em 50%, Zn em 30%, Fe em 90% e sulfato em 40%.

Desse modo, devido às complexidades práticas, observa-se resultados variáveis e baixa eficiência na prevenção da formação de DAM. Sendo assim, diversas vezes a única solução é reduzir o impacto desse efluente nas bacias hidrográficas assim como no ecossistema como um todo, por meio da aplicação de medidas de controle ou remediação. Essas medidas são

geralmente classificadas em processos ativos e passivos (JOHNSON; HALLBERG, 2005; KEFENI *et al.*, 2017).

### **1.3.3 Remediação de DAM**

Os tratamentos passivos visam tratar a água contaminada de forma natural, sem a necessidade de intervenções mecânicas ou químicas. Esses métodos geralmente envolvem a construção de canais que permitem que a DAM passe por camadas de solo ou rochas que possam neutralizar o ácido e com isso remover metais. Esse tipo de tratamento é considerado em ambientes onde a quantidade de DAM e os recursos disponíveis não garantem um tratamento ativo de qualidade. Já os tratamentos ativos para drenagem ácida envolvem a adição de um agente neutralizante como cal (CaO), cal hidratado (Ca(OH)<sub>2</sub>), amônia anidra (NH<sub>3</sub>) ou hidróxido de sódio (NaOH) para neutralizar a acidez diretamente na DAM e/ou a utilização de processos mecanizados. Embora o tratamento ativo possa ser eficaz, ele requer uma operação de longo prazo, na qual podem interferir o clima e a falha de equipamentos, podendo levar a interrupções no tratamento (AKCIL; KOLDAS, 2006; SKOUSEN *et al.*, 2017).

### **1.3.4 Métodos ativos de remediação de DAM**

Dentre as abordagens para remediar a DAM, os métodos ativos consistem em adicionar agentes químicos alcalinos para induzir ao aumento do pH e com isso causar a precipitação de metais, além de outras técnicas emergentes, como adsorção (FU; WANG, 2011; MOTSI *et al.*, 2009), processos envolvendo membranas (ALKHUDHIRI *et al.*, 2012; RICCI *et al.*, 2015) e troca iônica (GAIKWAD *et al.*, 2010). Inicialmente, a adição de um material alcalino na DAM é um método amplamente usado, que aumenta o pH, acelera a oxidação química do ferro ferroso (que requer aeração ativa ou adição de um agente oxidante químico, como o peróxido de hidrogênio), assim, provocando a precipitação de muitos metais presentes em solução na forma de hidróxidos e carbonatos (MAREE; DU PLESSIS, 1994; OLDS *et al.*, 2013). Em virtude dessa precipitação, é produzida uma lama alaranjada e rica em ferro e diversos metais, dependendo da composição química da drenagem (COULTON *et al.*, 2003). Nesse tipo de tratamento, podem ser utilizados diferentes tipos de alcalinizantes químicos (além dos mencionados anteriormente) como carbonato de cálcio, carbonato de sódio e óxido ou hidróxido de magnésio, em que cada um varia em termos de custo e eficácia. Por exemplo, o hidróxido de sódio é cerca de 1,5 vezes mais eficaz, mas custa aproximadamente nove vezes

mais do que a cal e alguns reagentes neutralizantes contendo cálcio podem remover mais sulfato comparado aos que não contém (JOHNSON; HALLBERG, 2005). Embora o tratamento químico ativo seja eficaz para remediar a DAM, ele apresenta desvantagens como alto custo operacional e problemas relacionados ao descarte da lama volumosa produzida. Com isso, existem refinamentos que visam melhorar a eficiência desse tipo de processo e reduzir os problemas associados à lama produzida. Nesse contexto, a adição de reagentes em várias etapas acompanhada de controle de pH pode resultar na remoção seletiva de alguns componentes da DAM, como arsênio e molibdênio, reduzindo a quantidade e toxicidade da lama (AUBE; PAYANT, 1997).

Além da utilização de agentes alcalinizantes, outra abordagem estudada por Gaikwad *et al.* (2010), foi a remoção de cobre (Cu) de DAM através da técnica de troca iônica utilizando uma coluna preenchida por resina. Essa técnica proporciona uma redução da lama em comparação com as técnicas de tratamentos envolvendo reagentes químicos e à melhor eficiência de descontaminação em soluções altamente diluídas. Os resultados obtidos nesse estudo mostram que a remoção de  $\text{Cu}^{2+}$  pode chegar a 64% e 28% em 100 minutos de contato com a resina em soluções aquosas com concentrações iniciais de 100 e 200  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente.

Do mesmo modo, a capacidade de tratamento de DAM por membranas de ultrafiltração foi demonstrada em um experimento de Ricci *et al.* (2015). Nesse estudo, foi avaliada a viabilidade de implementação de fases sequenciais de microfiltração, nanofiltração e osmose reversa para recuperar ácido sulfúrico, separar metais nobres e produzir água de reuso de alta qualidade a partir de drenagem ácida de mina de ouro. O estudo demonstrou que a nanofiltração atingiu alta separação de ácido sulfúrico, equivalente a 82% e uma purificação de ácido de aproximadamente 77% em relação à solução bruta (RICCI *et al.*, 2015).

Outro exemplo de abordagem para tratar a DAM por meio de intervenções ativas é o processo de Dessalinização Alcalina de Bário e Cálcio (ABC). Este método reduz tanto os níveis de metais quanto de sulfato e apresenta a vantagem de gerar baixos volumes de lodo. O estudo detalhado desta tecnologia é apresentado por Mulopo (2015). De maneira geral, o processo de dessalinização ABC é composto por três etapas principais: a etapa de neutralização para remoção de metais, a etapa de remoção de sulfato e a etapa de processamento de lodo (MULOPO, 2015).

Por outro lado, recentemente pesquisas têm utilizado resíduos alcalinos industriais para a remediação de DAM. Entre esses, podemos citar resíduos da fabricação de cal virgem, que têm sido utilizados em substituição à cal virgem comercial, tradicionalmente utilizada como na neutralização de DAM (TOLONEN *et al.*, 2014). Tolonen *et al.* (2014), estudaram quatro tipos de resíduos: cal parcialmente queimada armazenada ao ar livre, cal parcialmente queimada armazenada em silo, pó de forno e uma mistura de cal parcialmente queimada armazenada ao ar livre e dolomita, e seus resultados foram comparados com a cal virgem comercial e a cal hidratada. De acordo com esse trabalho, todos os subprodutos testados removeram mais de 99% de Al, As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn e aproximadamente 60% do sulfato presente na drenagem ácida (TOLONEN *et al.*, 2014).

Além desses resíduos, minerais como linhito, atapulgita, zeólita e bentonita também foram estudados como alcalinizantes de DAM. Esses recursos naturais surgem como uma opção viável pois já tiveram sua eficiência comprovada na redução da toxicidade da DAM e ainda contribuem para a redução dos custos do tratamento (JOHNSON; HALLBERG, 2005). Falayi e Ntuli (2014), utilizaram atapulgita como adsorvente para remoção de metais da DAM de uma mina de ouro, alcançando remoções de 100% para Cu e Fe, 93% para Co, 95% para Ni e 66% para Mn, utilizando uma carga de atapulgita de 10% (p/v) após 4 horas de tempo de contato. Em um estudo similar, foi empregado lignito como adsorvente em colunas de fluxo descendente, com resultados significativos na remoção de metais. Nesse estudo a recuperação de íons metálicos por meio do mecanismo de dessorção usando 0,1 M HNO<sub>3</sub>(aq) foi efetiva, no entanto, não foram mencionadas técnicas de separação de metais e o destino da solução de HNO<sub>3</sub> depois do uso (MOHAN; CHANDER, 2006).

Outro tipo de recurso natural testado no tratamento de DAM são as conchas. Foi demonstrado que a DAM pode ser tratada utilizando conchas de origem marinha trituradas como um meio de adsorção eficiente e econômico, tanto em testes em colunas montadas em policloreto de vinil (PVC) ou em frascos em agitação (bateladas) (MASUKUME *et al.*, 2014). Um estudo conduzido por Masukume *et al.* (2014), realizou uma análise espectroscópica para investigar o processo de adsorção de metais presentes na DAM nos fragmentos de concha marinha. Os resultados sugerem que a adsorção ocorreu por meio de processos químicos que envolvem troca iônica, adsorção e precipitação. Observou-se que a remoção de alumínio e ferro foi mais eficiente do que a de manganês, o que pode estar relacionado às características eletronegativas e de tamanho dos íons. Ademais, foi verificado que a dosagem de adsorvente

(concha) influenciou positivamente na remoção de metais e sulfatos, porém a capacidade de adsorção diminuiu com o aumento do pH, indicando que com o aumento desse fator, ocorre alguma influência sobre o processo de remoção de metais (MASUKUME *et al.*, 2014).

A concha do mar é um material resistente, cujo principal constituinte é o carbonato de cálcio, nas formas cristalinas de calcita ou aragonita (NARAYANAN *et al.*, 2006). Elas ainda podem ser trituradas em pequenos pedaços para aumentar a capacidade de adsorção de metais residuais. Estudos demonstram que o tratamento de DAM por meio de conchas trituradas apresenta grande potencial como material adsorvente alternativo de baixo custo para esse tipo de tratamento (KEFENI *et al.*, 2017). Visto que esse material é utilizado no presente trabalho, trabalhos envolvendo o tratamento de DAM utilizando conchas serão melhor descritos a seguir.

Segundo Tudor *et al.* (2006), as conchas do mar adsorvem metais, como o  $Mn^{2+}$ , por meio de quimissorção ou fisissorção. Zachara *et al.* (1988) concluíram que a adsorção de  $Zn^{2+}$  e  $Co^{2+}$  nas conchas do mar ocorre por meio de troca iônica com  $Ca^{2+}$ . Desse modo, podemos observar diferentes mecanismos químicos de remoção de pelas conchas. Nesse contexto, a utilização das conchas do mar como adsorventes é economicamente e tecnicamente viável, devido ao seu baixo custo e abundância na natureza (são resíduos gerados na maricultura), além de possuírem estruturas porosas intrínsecas para aprisionar contaminantes e fornecendo maior área de contato para a alcalinização da DAM (MASUKUME *et al.*, 2014).

Nguyen, Soda e Horiuchi (2022), realizaram experimentos em batelada (frascos de vidro de 300 mL) e em wetlands na escala laboral, ambos preenchidos com conchas de ostra e calcário para neutralizar a DAM. Nesses dois sistemas foram tratadas DAM sintética e natural, com um tempo de retenção hidráulica de 7 dias. Os valores de pH do efluente dos wetlands atingiram 6,9-8,3. Os resultados indicaram que as conchas de ostra com alto teor de  $CaCO_3$  tinham maior capacidade de neutralização para DAM do que o calcário. Durante esse trabalho, todos os wetlands com conchas ostra e calcário foram altamente eficazes na remoção de Zn (88,6-99,2%); Fe (98,7-99,7%); e Cd, Cu, Pb, As e Mn (48,2-98,9%) de DAM natural e sintética (NGUYEN; SODA; HORIUCHI, 2022).

Complementarmente, em relação a capacidade de adsorção das conchas de ostra, Gimenez (2015), realizou um estudo utilizando grãos de concha de ostra bruta como agente de neutralização/adsorção para remoção de metais em soluções sintéticas e naturais de DAM, oriundas da Região Carbonífera Catarinense. Os resultados indicaram que as seguintes capacidades máximas de adsorção: 16,61  $mg \cdot g^{-1}$  para Al em solução sintética, 29,58  $mg \cdot g^{-1}$



para ferro com DAM e  $0,18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  para Mn com DAM. Após o tratamento com concha de ostra, o alumínio e ferro alcançaram concentrações abaixo das máximas permitidas pela Resolução CONAMA 357 de 2005 para águas da classe 3, enquanto o manganês não atingiu os padrões exigidos (GIMENEZ, 2017; CONAMA, 2005). Por fim, foi investigado por Shin *et al.* (2014), o desempenho de vários adsorventes, incluindo a concha de ostra, na adsorção de múltiplos íons metálicos ( $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ ) em soluções aquosas. Os resultados da análise de microscopia eletrônica de varredura indicaram que alguns íons metálicos foram adsorvidos na superfície dos adsorventes. Enquanto a análise por espectroscopia de infravermelho evidenciou que as ligações entre C-O podem estar envolvidas nesse processo de adsorção de metais na superfície desse tipo de adsorvente.

Além das conchas, cascas marinhas também podem ser utilizadas. De acordo com o estudo realizado por Daubert e Brennan (2007), a utilização de quitina proveniente de cascas de caranguejo como substrato multifuncional apresentou resultados promissores na redução da acidez e concentração de metais em água contaminada por drenagem ácida de mina. Os testes realizados demonstraram que a quitina aumentou o pH de 3,21 para 6,79 em 9 dias, além de reduzir a acidez de 192 para  $-114 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  e aumentar a alcalinidade de 0 para  $235 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . A concentração de ferro e alumínio dissolvidos foi reduzida em mais de 99%, enquanto a concentração de manganês foi reduzida em 81%. Os resultados indicaram que a adsorção física de ferro pela quitina, a precipitação química de hidróxido de alumínio e a precipitação biologicamente induzida de sulfeto de manganês foram os mecanismos prováveis de remoção de metais dissolvidos. NUNEZ-GOMEZ *et al.* (2019), utilizaram casca de camarão *in natura* como biomaterial adsorvente, e concluíram que foi possível remover íons metálicos e ácidos presentes na DAM por meio do mecanismo de fisissorção, que é um tipo de adsorção em que as interações moleculares entre as moléculas do adsorbato e do adsorvente são governadas principalmente por forças de van der Waals, enquanto a quimissorção envolve forças de valência, como aquelas encontradas na formação de ligações químicas (AGBOOLA; BENSON, 2021). A metodologia incluiu ensaios de isotermas com soluções sintéticas e DAM natural (o ensaio consiste em expor o material adsorvente a diferentes concentrações da substância alvo), sendo o modelo de isotermas de Freundlich considerado o mais apropriado para ajustar os dados experimentais. O estudo também mostrou que a remoção de íons metálicos em fluxo contínuo foi de até 90% para Fe e 88% para Mn, resultando em um aumento de pH de 3,49 para 6,77. As

capacidades de adsorção de Fe e Mn foram de 17,43 e 3,87 mg g<sup>-1</sup> de concha de camarão in-natura, respectivamente.

De forma geral, o uso de recursos naturais disponíveis para a remediação de DAM é promissor, desde que sua aplicação em grande escala seja realizada de forma sustentável e permita a recuperação de recursos valiosos do adsorvente de maneira economicamente viável. Caso contrário, se tentar-se descartar o lodo gerado de forma convencional, os metais adsorvidos e outros contaminantes podem facilmente lixiviar, especialmente de adsorventes com baixa capacidade de ligação. Consequentemente, os efeitos colaterais podem ser piores do que os impactos da DAM (SKOUSEN *et al.*, 2019).

Dentre os tratamentos ativos, os tratamentos biológicos estão em constante crescimento, principalmente pelo seu custo reduzido e alta eficiência. Comparados aos tratamentos químicos convencionais de DAM, os tratamentos biológicos, apresentam vantagens em termos de custos operacionais reduzidos, facilidade no projeto e controle do processo, melhor recuperação de sulfato e metais (JAMIL; CLARKE, 2015; RAMBABU *et al.*, 2020). A forma mais comum de tratamento biológico para DAM utiliza bactérias redutoras de sulfato (SRB) em biorreatores para recuperação microbiana de metais e sulfatos presentes na DAM como sulfetos metálicos. Essa forma de tratamento se baseia em utilizar a DAM (previamente tratada ou não) como substrato (junto com outros compostos orgânicos) para o crescimento de bactérias redutoras em biorreatores controlados e depois utilizar os compostos gerados para outras etapas de remediação ou fins industriais. As SRB reduzem o sulfato presente na DAM em sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), que se liga aos metais presentes no fluxo de DAM e em sequência são precipitados como sulfetos metálicos. Os biorreatores sulfidogênicos, como os sistemas industriais Biosulfide e Thiopaq, são exemplos industriais da produção biogênica de sulfeto de hidrogênio para gerar alcalinidade, remover metais como sulfetos insolúveis e gerar compostos de interesses industriais. Os biorreatores ainda podem ser acoplados a outras abordagens diferentes da biológica, como a instalação de precipitadores e clarificadores (JOHNSON; HALLBERG, 2005). O sistema Biosulfide possui componentes químicos e biológicos que operam independentemente, permitindo a separação seletiva de um determinado sulfeto de metal (ROWLEY *et al.*, 1994). O processo Thiopaq se difere porque utiliza duas populações e processos microbiológicos distintos, convertendo o sulfato em sulfeto pelas populações SRB e convertendo o sulfeto de hidrogênio produzido em enxofre, utilizando bactérias oxidantes de sulfeto (BOONSTRA *et al.*, 1999; VAN LIER *et al.*, 2013).

Diversos tipos de reatores têm sido utilizados para estudar a redução biológica de sulfato, tais como reatores de tanque agitado continuamente, reatores de batelada sequencial, reatores de elevação de gás, reatores de cama fluidizada, reatores de filtro anaeróbio/cama empacotada, reatores híbridos anaeróbios, reatores de manta de lodo anaeróbio e biorreatores de membrana (RAMBABU *et al.*, 2020). Em um estudo de Hedrich e Johnson (2014), os principais metais presentes na DAM da mina de Maurliden, na Suécia, como zinco e ferro, foram removidos através da bio-mineralização controlada de Zn para ZnS e do ferro como ferro-oxihidroxissulfato em biorreatores sulfidogênicos e removido através da precipitação na forma de hidróxidos. Esse resultado demonstra a capacidade de recuperação de metais específicos em bioprocessos controlados.

Entretanto, a utilização de SRB apresenta desvantagens, como o efeito negativo do baixo pH da DAM, que pode afetar o crescimento de microrganismos e prejudicar o desempenho do biorreator. Todavia, é possível reduzir este problema com a adição de sais, como  $\text{CaCO}_3$ , e diferentes tipos de substrato orgânico. O  $\text{CaCO}_3$  aumenta o pH da DAM, enquanto ambos os produtos ( $\text{CaCO}_3$  e substrato orgânico) melhoram o desempenho adequado do SRB, removendo certos metais tóxicos e servindo como nutrientes para os microrganismos (KEFENI *et al.*, 2017; DA COSTA *et al.*, 2013, 2012; XINGYU *et al.*, 2013).

Por conseguinte, a remediação de DAM por meio de SRB é uma técnica que pode se utilizar de misturas de diversos sais (como,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e substratos orgânicos disponíveis localmente, tais como dejetos de animais, serragem, resíduos de cana-de-açúcar, extrato de levedura, aparas de madeira e outras fontes de carbono para o metabolismo bacteriano. É importante destacar que o uso de misturas contendo mais de uma fonte de componente orgânico é capaz de reduzir as desvantagens dessa técnica e proporcionar maior redução de sulfato e remoção de metais em processos de remediação de DAM por meio de SRB é impactada significativamente pela variação das misturas entre DAM e um substrato orgânico. Assim, a otimização da proporção de uma mistura adequada de substrato é essencial para atingir a redução ótima de sulfato e remoção de metais (MUHAMMAD *et al.*, 2015; NECULITA *et al.*, 2007; NOGUEIRA *et al.*, 2021; WAYBRANT *et al.*, 1998). Estudos mostraram que a eficiência da redução de sulfato e remoção de metais em processos de remediação de DAM por meio de SRB é impactada significativamente pela variação das misturas entre DAM e um substrato orgânico. Assim, a otimização da proporção de uma mistura adequada de substrato é essencial para atingir a redução ótima de sulfato e remoção de metais (MUHAMMAD *et al.*, 2015; NECULITA *et al.*, 2007).

Em relação a utilização de SRB em biorreatores e diferentes fontes de componentes orgânicos Hurtado, Viedma e Cotoras (2018), realizaram um estudo com consórcio microbiano

halotolerante que foi enriquecido usando substratos complexos, como biomassa de *Spirulina*, celulose e amido industrial. Nesse processo, para a remoção de metais antes do tratamento com o consórcio de bactérias redutoras, foi utilizado um processo de biossorção previamente desenvolvido pelo grupo de pesquisa (COTORAS *et al.*, 2009). Os resultados mostraram que o consórcio halotolerante foi capaz de reduzir a concentração de sulfato usando substratos orgânicos de baixo custo (HURTADO; VIEDMA; COTORAS, *et al.*, 2018).

Complementarmente, reatores SRB com substrato orgânico foram considerados mais eficientes do que os reatores apenas com calcário (LEFTICARIU *et al.*, 2015). Esses resultados reforçam a importância e o potencial da utilização de uma fonte orgânica em biorreatores anaeróbicos para a remediação efetiva de DAM. A partir desses resultados, os autores sugeriram que otimizar a quantidade de entrada do substrato orgânico e o pré-tratamento de DAM a fim de reduzir a alta concentração de Fe e Al, e pode melhorar a eficiência de remoção de contaminantes (LEFTICARIU *et al.*, 2015).

Em comparação, os sistemas passivos consistem em sistemas biológicos e sistemas geoquímicos que podem conter materiais inorgânicos, como carbonatos. Entre os sistemas biológicos, destacam-se os wetlands. Já os sistemas geoquímicos incluem métodos como: os drenos anóxicos de calcário, os canais abertos de calcário e leitos de lixiviação de calcário (SKOUSEN *et al.*, 2005, 2017, 2019).

### **1.3.5 Métodos passivos de remediação de DAM**

Degens (2009), estudou um wetland em Beacon, Austrália, formado por uma célula de tratamento rasa junto de esterco de ovelha compostado. De acordo com relatório de monitoramento de desempenho, o wetland atingiu o máximo de tratamento de DAM nos primeiros 100-124 dias, mas a eficiência de tratamento diminuiu com o passar do tempo devido as condições de oxidação geradas no wetland. A influência da oxidação na matéria orgânica do subleito e na água superficial foi associada à incapacidade do wetland de manter configurações propícias à redução biológica de sulfato (NAIDU *et al.*, 2019). Em outros casos (EGER; WAGNER, 2002; AKCIL; KOLDAS, 2006), a eficiência de wetland para o tratamento de DAM foi estabelecida apenas em cenários controlados. Nesses estudos foi possível observar que mudanças rápidas na concentração e na taxa de fluxo, bem como oxidação e precipitação de metais, são aspectos que prejudicam significativamente o desempenho de wetland para

remediação de DAM. As condições climáticas, como inundações e variações sazonais, também restringem o uso de wetlands (NAIDU *et al.*, 2019).

Nguegang *et al.* (2021), avaliaram a utilização de um sistema de wetland com fluxo vertical para tratamento de drenagem ácida de mina. O wetland foi enriquecido com uma planta da família das gramíneas, *Vetiveria zizanioides*, como meio de descontaminação e solo como substrato. A remoção das concentrações de metais e sulfato observada foi de: Fe (71,25%), Zn (70,40%), Mn (62%), Al (56,68%),  $SO_4^{2-}$  (55,18%), Ni (35%), Cu (18,83%). Análises deste estudo comprovaram a presença de substâncias químicas oriundas da DAM no substrato e nas partes vegetais, indicando que as plantas tiveram um papel importante na remoção dos contaminantes. A modelagem geoquímica confirmou que os metais existiam como complexos di e trivalentes na DAM, enquanto os metais identificados na planta e no substrato foram precipitados como hidróxidos e oxihidrossulfatos. De acordo com os autores, pode-se concluir que o sistema de wetland com fluxo vertical pode ser utilizado para tratamento passivo da DAM, sendo especialmente útil para minas em operação ou abandonadas. No entanto, estudos de longo prazo e em maior escala são necessários para avaliar a sua eficácia por um maior período de variação (NGUEGANG *et al.*, 2021).

Os métodos passivos geoquímicos são baseados na alcalinização por sais inorgânicos, como os de cálcio. Dentre os métodos mais comuns, serão relatados os trabalhos mais relevantes com drenos anóxicos de calcário, os canais abertos de calcário e leitos de lixiviação de calcário. Os drenos anóxicos de calcário consistem em valas preenchidas com calcário, que permitem que a DAM percorra por elas, sendo facultativa uma etapa de pré-tratamento para remover o oxigênio da drenagem ácida. Cravotta III (2003), relata a neutralização de DAM em drenos de calcário anóxico subterrâneos, nos quais ocorre uma reação entre a DAM e o calcário ( $CaCO_3$ ), aumentando o pH, a alcalinidade e cálcio, de acordo com o tempo de retenção no dreno. Embora os testes deste trabalho tenham fornecido estimativas iniciais e máximas de alcalinidade de acordo com o tempo de retenção, sua principal limitação é o uso de pequenas quantidades de DAM.

É possível também unir abordagens geoquímicas e biológicas, contruindo wetlands, por exemplo, com substratos orgânicos e inorgânicos, e assim suportar a redução bacteriana de sulfato e remoção de metais dissolvidos pela alcalinização da DAM (KEFENI *et al.*, 2017). Cravotta III (2008), uniu essas duas abordagens e utilizou um sistema de drenos de calcário anóxico em laboratório para determinar o tempo de retenção para alcalinizar a DAM. Obtendo

o resultado de que a partir de 3 horas de retenção no dreno foi possível obter um efluente alcalino. Com base nos resultados em escala piloto, um sistema descartável de dreno de calcário anóxico contendo 1450 toneladas métricas de calcário, seguido por dois pântanos de 0,7 m de profundidade, foi construído na mina Reevesdale, na Pennsylvania. Durante o primeiro ano de operação, dados mensais nos pontos de entrada, saída e intermediários dentro do sistema de tratamento foram coletados (abril de 2006-2007). A entrada para o sistema de tratamento teve um pH médio de 4,7 e concentrações de Al, Fe e Mn dissolvidos de 1,0, 1,9 e 0,89 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. O efluente no sistema de tratamento teve tempo de retenção de volume vazio calculado de 4,5 a 18 horas, com pH médio de saída 6,6, e concentrações de Al, Fe e Mn dissolvidos de < 0,1, 0,08 e 0,52 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Em paralelo, os canais abertos de calcário geralmente utilizam a gravidade conduzindo a DAM por canais íngremes e geram alcalinidade quando a DAM passa sobre grandes pedaços de calcário (> 30 cm) na presença de oxigênio (ZIEMKIEWICZ *et al.*, 1997). A eficácia desse tipo de tratamento é variada e não reduz totalmente a toxicidade da DAM, entretanto, esse sistema pode-se ser considerado viável por ser um sistema que necessita de baixa tecnologia, baixa manutenção e baixo custo (SKOUSEN *et al.*, 2005, 2017). Alcolea *et al.* (2012), realizaram um estudo em campo durante 4 anos com um canal aberto de calcário de comprimento total de 1986 m. Os resultados indicaram que os valores de pH e Ca aumentaram, enquanto os metais K, Mg, Al, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Cd e Sb, reduziram em direção ao fim do canal (ALCOLEA *et al.*, 2012). Vários outros trabalhos corroboram com o efeito limitado dessa metodologia, mas a mesma é de fácil implementação e manutenção (ROSE; LOURENSO, 2000; SKOUSEN; ZIEMKIEWICZ, 2002).

Os leitos de lixiviação alcalina são sistemas de tratamento aeróbicos que empregam lagoas em vez de canais, e consistem em uma alternativa aos canais de calcário. Diferentemente dos canais abertos de calcário, os leitos de lixiviação não possuem declividade e são compostos por pedaços menores de calcário (com diâmetro entre 2 a 10 cm). O calcário dissolve-se e contribui para a adição contínua de alcalinidade e com isso o aumento do pH, até que sejam formados hidróxidos metálicos que são precipitados e se depositam no revestimento do calcário, tornando-o menos eficaz com o passar do tempo (ZIEMKIEWICZ *et al.*, 1997). Os leitos de lixiviação alcalina podem ser instalados na fonte de uma infiltração de água ácida de mina ou em um fluxo de mina subterrânea, podendo também ser usados para pré-tratar DAM com baixo pH (<3.0) e DO (<1 mg L<sup>-1</sup>) em uma estratégia de fluxo ascendente ou descendente (SKOUSEN

*et al.* 2017). Todavia, os leitos de fluxo descendente são mais susceptíveis a entupimentos. Estudos já demonstraram que um tempo de retenção de 30 minutos nesse tipo de leito é suficiente para remover cerca de 50% da carga ácida de DAM levemente ácida (pH~6,0) (BLACK *et al.*, 1999) Ademais, Ziemkiewicz *et al.* (2003) afirmam que os leitos de calcário são úteis na extremidade a montante dos sistemas de canais abertos de calcário, visto que reduzem a extensão necessária dos sistemas, melhoram sua vida útil e são facilmente mantidos.

Em conclusão, um dos maiores estudos relacionados a efetividade de diferentes tratamentos passivos implementados na Pennsylvania foi conduzido por Hedin *et al.* (2013). Foi realizada uma avaliação de longo prazo (20 anos) em quatro sistemas de tratamento passivo de drenagem ácida de mina abandonada em diferentes regiões. Foram empregadas as metodologias passivas como drenos anóxicos de calcário, canal aberto de calcário, pontes de fluxo vertical de calcário contendo substrato orgânico e wetlands (HEDIN, 2008; HEDIN *et al.*, 2010; 2013). Segundo o autor, os sistemas foram projetados, construídos e mantidos adequadamente, proporcionando uma solução eficaz e de custo-benefício para efluentes de minas contaminadas em áreas de mineração abandonadas. Os dados apresentados por Hedin *et al.* (2013), demonstraram que os sistemas forneceram tratamento confiável e eficaz por um período de 3 a 18 anos. No entanto, o estudo destacou que o dreno anóxico de calcário não pode ser usado sozinho para tratar DAM com alta concentração de ferro (HEDIN, 2013).

#### **1.4 Esgoto doméstico**

O esgoto doméstico urbano (ED), é o resíduo líquido gerado em grande volume pelas atividades domésticas, principalmente em grandes centros urbanos. Só no Brasil, são gerados mais de 21,3 milhões de metros cúbicos de esgoto por dia, dos quais menos da metade é tratado (IBGE, 2017). Quando destinado de maneira precipitada, o esgoto doméstico pode gerar diversos problemas sanitários com riscos tanto para a saúde humana, quanto para a ambiental. O ED origina-se em residências, edifícios comerciais, instituições ou qualquer instalação que utilize água. Esse efluente se caracteriza por ser alcalino e apresentar grande quantidade de matéria orgânica, agentes patogênicos, nitrogênio e fósforo (JORDÃO; PESSOA, 1995).

Em sua composição apresenta água de lavagem, urina, fezes, papel, restos de alimentos e detergentes – cerca de 0,1 % do esgoto é sólido e 99,9% representado por água (JORDÃO; PESSOA, 1995). A fração orgânica é composta por proteínas, gorduras, carboidratos e fenóis. As substâncias minerais mais importantes do ED são nutrientes (nitrogênio e fósforo –

causadores de eutrofização), enxofre, metais pesados (como ferro e manganês) e compostos tóxicos (como micropoluentes). A contaminação de águas subterrâneas com nutrientes derivados de águas residuais humanas é conhecida há muito tempo por favorecer eutrofização de lagos, estuários e águas costeiras (BREZONIK, 1972, BICKI *et al.*, 1984, LAPOINTE *et al.*, 1990, VALIELA *et al.*, 1992, WEISKEL; HOWES, 1992, USEPA, 2002). A entrada de nutrientes em corpos hídricos impacta negativamente a biodiversidade, aumentando a proliferação de hidrófitas, algas nocivas, macroalgas e/ou epífitas (ANDERSON *et al.*, 2002) e fitoplâncton (PHLIPS *et al.*, 2011). Dessa maneira é possível observar que a falta de adequação de tratamento e destinação do esgoto doméstico representa um alto risco para a saúde unificada.

Os micropoluentes presentes no esgoto, como produtos farmacêuticos e cosméticos, fazem parte de um grupo de compostos altamente consumidos na sociedade atual. Essas substâncias como: antibióticos, tranquilizantes, hormônios (naturais e sintéticos), fragrâncias quando são lançadas livremente no meio ambiente, podem gerar toxicidade aquáticos e terrestres (FENT *et al.* 2006; JJEMBA 2006).

Em relação a logística do tratamento de esgoto em grandes cidades, o processamento do esgoto está sujeito a problemas de infraestrutura como o transbordamento e vazamento tanto durante o transporte quanto no tratamento, devido a períodos de chuva intensos, por exemplo (KARPF; KREBS, 2011). O sistema de esgoto pode causar ainda mais transbordamento na região receptora durante eventos de chuva, intensificando o carreamento de poluentes abundantes, vírus e bactérias no sistema de esgoto para outros ambientes como as águas subterrâneas e superficiais (USEPA, 2004).

Em suma, a liberação de esgoto não tratado no meio ambiente, seja em águas subterrâneas, superficiais ou no solo, resulta em diversos impactos ambientais adversos. Primeiramente, a decomposição dos materiais orgânicos presentes nessas águas residuais pode gerar grandes quantidades de gases malcheirosos. Outro ponto é que o lançamento de esgoto doméstico não tratado, que contém uma alta carga de matéria orgânica, em rios ou córregos leva ao consumo do oxigênio dissolvido para suprir a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) gerada nesse corpo hídrico, resultando na diminuição do oxigênio disponível no fluxo hídrico. Isso pode ocasionar a morte de peixes e outros efeitos indesejáveis. Outro problema associado ao esgoto é a presença de nutrientes, que, como apresentado anteriormente, podem estimular o crescimento excessivo de plantas aquáticas e a proliferação de algas nocivas (SPELLMAN, 1999, TOPARE, *et al.*, 2011).



Por fim, as águas residuais não tratadas geralmente abrigam microrganismos patogênicos, responsáveis por doenças, bem como substâncias tóxicas que podem estar presentes em resíduos industriais. Esses contaminantes podem afetar o solo e corpos d'água onde essas águas residuais são descarregadas, representando um risco para a saúde humana e o ecossistema em geral. Portanto, é essencial o tratamento adequado das águas residuais antes de seu descarte no ambiente.

### **1.5 Tratamentos convencionais de ED**

Até o final do século XIX, a forma predominante de disposição de excrementos humanos era por meio de banheiros ao ar livre, com grande parte da população realizando a defecação a céu aberto. A implementação de sistemas de tratamento de esgoto nas cidades ocorreu após pesquisadores como Louis Pasteur demonstrarem que as bactérias presentes no esgoto eram responsáveis por diversas doenças infecciosas. As primeiras abordagens para o tratamento de esgoto, durante meados dos anos 1900, geralmente envolviam a aquisição de grandes propriedades rurais e a distribuição do esgoto no solo, onde ocorria a decomposição por ação de micro-organismos (HENZE; HARREMOES, 1983). Diversas abordagens foram realizadas em tentativas subsequentes para solucionar o problema do tratamento de águas residuais, como a descarga direta desses efluentes nos corpos d'água. No entanto, essas tentativas se mostraram ineficazes, resultando em um considerável declínio na qualidade da água desses corpos hídricos (MCGHEE, 1991).

Até o início dos anos 1970, os objetivos do tratamento de águas residuais eram somente relacionados à remoção de materiais suspensos, à redução de compostos orgânicos e à eliminação de microrganismos patogênicos causadores de doenças. Após os anos 1990, os objetivos do tratamento de ED passaram a englobar também a remoção de poluentes prejudiciais ao ambiente, como os nutrientes (N e P), que não são eficientemente removidos na maior parte dos processos de tratamento e causam eutrofização (ZHOU; SMITH, 2002).

O tratamento convencional de esgotos domésticos visa a remoção de sólidos, nutrientes, matéria orgânica e patógenos. Esse tipo de tratamento geralmente é composto por cinco etapas sequenciais: (1) tratamento preliminar ou pré-tratamento, que envolve processos físicos e mecânicos; (2) tratamento primário, que utiliza métodos físico-químicos e químicos; (3) tratamento secundário, que envolve processos químicos e biológicos; (4) tratamento terciário ou final, que utiliza processos físicos e químicos; e (5) tratamento do lodo formado, que pode

incluir descarte controlado, reciclagem ou incineração. Geralmente, as duas primeiras etapas são agrupadas como pré-tratamento ou etapa preliminar, dependendo da situação específica (ANJANEYULU *et al.*, 2005; CRINI; BADOT, 2007; 2010). As operações unitárias de cada fase variam dependendo do modelo de sistema projetado, principalmente na fase biológica (tratamento secundário).

Em relação às operações que fazem parte de sistemas de tratamento de ED as técnicas que se baseiam na aplicação de forças físicas são denominadas operações unitárias físicas. Exemplos dessas operações incluem peneiramento, mistura, floculação, sedimentação, flotação, filtração e transferência de gases (METCALF & EDDY, 2014). Por outro lado, os processos químicos unitários referem-se aos métodos de tratamento em que a remoção ou conversão de contaminantes é realizada por meio da adição de produtos químicos ou reações químicas. A precipitação e a adsorção são exemplos comumente utilizados no tratamento de águas residuais (LAKSHMANA *et al.*, 2011). Na precipitação química, o tratamento ocorre pela formação de um precipitado químico que sedimenta. Em muitos casos, o precipitado sedimentado contém tanto os constituintes que reagiram com os produtos químicos adicionados quanto os constituintes que foram arrastados para fora do efluente quando o precipitado sedimentou. Já a adsorção consiste na remoção de compostos específicos do efluente por meio da adesão a superfícies sólidas, utilizando as forças de atração entre os corpos (HENZE; HARREMOES, 1983; LETTINGA; HULSHOFF, 1986).

Por fim, os processos de unidades biológicas referem-se aos métodos de tratamento em que a remoção de contaminantes é realizada por meio de atividade biológica. O tratamento biológico é principalmente utilizado para remover substâncias orgânicas biodegradáveis (coloidais ou dissolvidas) presentes em águas residuais (ROSEN *et al.*, 1998). Essas substâncias são convertidas em gases que podem escapar para a atmosfera e em tecidos celulares biológicos que podem ser removidos por sedimentação. Além disso, o tratamento biológico também é empregado para remover nutrientes, como nitrogênio e fósforo, presentes no ED. Existem sistemas biológicos que promovem o metabolismo anaeróbio, aeróbio ou ambos. Exemplos de sistemas com predomínio de metabolismo anaeróbio são filtros anaeróbios e reatores UASB (reator anaeróbio de manta de lodo com fluxo ascendente). Os principais sistemas aeróbios são os de lodos ativados, que apresentam diferentes variações, e os filtros aeróbios de fluxo descendente. Os sistemas de tratamento por lagoas de estabilização geralmente operam com lagoas anaeróbias, seguidas de lagoas facultativas (anaeróbias no fundo e aeróbias na

superfície) e, eventualmente, lagoas de oxidação (aeróbias) (WANG, 1994; SEGHEZZO, 1998).

As estações de tratamento de esgoto (ETE) integram esses sistemas de tratamento de forma estruturada. Entre as unidades dos sistemas convencionais citados acima, apenas as lagoas facultativas e lagoas de oxidação podem apresentar microalgas como componentes biológicos ativos no processo de tratamento, as quais são eficientes na remoção de nutrientes, micropoluentes e produção de oxigênio dissolvido. As microalgas fazem parte de operações de nível secundário, mas atuam em operações típicas de tratamento terciário. Apesar de as companhias de saneamento focarem muito nos sistemas convencionais, há uma ampla gama de variações, adaptações e inovações nos processos de tratamento na literatura que têm sido considerados eficientes. Esses processos envolvem técnicas físicas, químicas e biológicas específicas. A pesquisa de processos adaptados às características climáticas regionais e de cada tipologia de efluente é fundamental para o aumento da eficiência de tratamento (KIM *et al.*, 2000; CHAI *et al.*, 2021; WOLLMANN *et al.*, 2019).

## 1.6 Cotratamento de DAM e ED

Uma forma de reduzir os custos do tratamento do ED é através de cotratamento com DAM. A partir dessas metodologias já foram observadas melhoras nos processos convencionais da estação de tratamento de ED, como: melhor coagulação (EDZWALD; TOBIASON, 1999), remoção precipitada da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (STROSNIDER *et al.*, 2011a), e maior inativação de coliformes fecais (WINFREY, *et al.* 2010; KRUSE *et al.*, 2019).

Foi demonstrado que o cotratamento de DAM e ED tem capacidade de remover metais da DAM de baixo pH, ao mesmo tempo em que reduz a DBO e nutrientes do ED (HUGHES; GRAY, 2013b; STROSNIDER *et al.*, 2013a, 2011a). Da mesma forma a eficácia do cotratamento de ED e DAM com o uso de infraestrutura adicional específica foi avaliada em diversas escalas. *Wetlands* de tratamento em escala de bancada, empregando clarificação, mídia de biofilme e leitos de calcário, mostraram eficiência desse tipo de técnica, com remoção efetiva de DBO e metais dissolvidos (STROSNIDER; NAIRN, 2010; WINFREY *et al.*, 2010). Em estudos de bancada, a combinação de lodo metálico proveniente de uma estação de tratamento de DAM ativa com efluente ED sintético e bruto em diferentes proporções demonstrou mais de 90% de remoção de fosfato e níveis residuais abaixo de  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  (RUIHUA *et al.*, 2011; WEI *et al.*, 2008). Em uma pesquisa de campo, a adição de DAM a uma lagoa de evaporação de ED

resultou na redução das concentrações de metais e sulfatos nas águas residuais ao longo de 18 meses de monitoramento (MCCULLOUGH *et al.*, 2008). Em outro estudo de cotratamento em wetlands de escala piloto, foram observadas remoções significativas de Fe (>60%) e DBO (>30%) (JOHNSON; YOUNGER, 2006). Em uma escala maior, um estudo durante 4 anos revelou que a implementação de wetlands de cotratamento melhorou da qualidade da água, aumentando a remoção de DBO, NH<sub>3</sub>, Fe e fósforo total (YOUNGER; HENDERSON, 2014). Apesar do sucesso desses exemplos de cotratamento, uma limitação importante é a necessidade de infraestrutura adicional de tratamento, e falta de estudos sobre a viabilidade do cotratamento direto em uma ETE existente.

Spellman *et al.* (2020), analisaram a eficiência do cotratamento de DAM e ED em uma escala de bancada. A metodologia consistiu em combinar DAM com diferentes proporções de ED, seguido pela sedimentação do lodo e análise comparativa da qualidade da água resultante. A adição de DAM diminuiu as concentrações de ortofosfato do ED abaixo de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, com remoção superior a 97%, evidenciando o cotratamento como uma solução alternativa para a remoção de nutrientes do esgoto municipal.

O impacto da adição de DAM na comunidade microbiana do efluente de esgoto municipal também foi investigado em relação à respiração microbiana, fornecendo evidências de adaptação microbiana. Quando comparados, reatores de tratamento de ED com DAM consumiram oxigênio em uma taxa mais lenta inicialmente quando comparados aos reatores somente com ED, mas começaram a se adaptar ao longo do tempo. Os resultados respirométricos também indicam que o aumento gradual da proporção de DAM : ED pode melhorar a adaptação microbiana e assim permitindo que esses microrganismos colaborem no tratamento. Este estudo demonstra que o cotratamento pós-aeração permite a remediação de DAM de pH moderado sem afetar adversamente os processos de tratamento de esgoto (biodegradação por microrganismos).

Em paralelo, um estudo de Deng *et al.* (2016) avaliou a cinética microbiana em reatores SRB de cotratamento e concluiu que níveis excessivos de ferro devem ser evitados para limitar seus efeitos sobre SRB, as bactérias responsáveis por remover o sulfato da mistura. Desse modo, uma opção para resolver esse problema é a implementação de um pré-tratamento da DAM, visando reduzir a concentração desse metal. Um trabalho recente conduzido por Masindi *et al.* (2022), buscou determinar a forma mais eficiente de misturar ED e DAM, visando uma maior remoção de nutrientes e metais. Assim, três parâmetros operacionais principais foram

analisados em um experimento de bateladas: a relação de volume entre os efluentes (efeito de DAM para volume ED), duração da mistura (efeito de tempo de contato) e temperatura. As melhores condições de cotratamento identificadas consistiram em 15 minutos de tempo de contato (agitação a 250 rpm), proporção volume-volume de 1:7 (DAM: ED), temperatura e pH ambiente. Nesse cenário foi observada uma redução significativa no teor de metais da DAM (por exemplo, Al, Fe, Mn, Zn) em aproximadamente 95%, juntamente com uma redução de aproximadamente 92% no teor de sulfato. Além disso, o teor de fosfato do ED foi praticamente removido, alcançando uma remoção de pelo menos 99%. A partir dos resultados o autor descreve que a eficácia de remoção de contaminantes aumenta consideravelmente com a utilização de proporções menores de DAM para ED, o que indica que a diluição desempenha um papel indispensável na atenuação dos contaminantes de ambos os fluxos de águas residuais, especialmente da drenagem. O trabalho também descreve que a afinidade do  $\text{PO}_4^{3-}$  para Fe e Al divalente e trivalente contidos na DAM, juntamente com o aumento do pH da mistura, podem ser considerados como os mecanismos subjacentes para a remoção de contaminantes.

Hughes e Gray (2013a), examinaram os impactos de diferentes formas de misturar DAM e ED em reatores de lodo ativado. Durante o cotratamento foram utilizados DAM sintética e ED, foram simulados três processos de misturas diferentes: o processo 1 envolveu a adição direta de DAM não tratada aos tanques de aeração; no processo 2 foi simulado o pré-tratamento da DAM, onde foi misturada com lodo de esgoto digerido, enviada para um tanque de sedimentação e, posteriormente, o sobrenadante foi adicionado aos tanques de aeração; no processo 3 foi simulado o pré-tratamento da DAM misturando-a com ED peneirado antes de adicionar aos tanques de aeração. Os resultados mostraram que a mistura contínua de DAM nos reatores de lodo ativado durante o cotratamento não teve um impacto significativo na demanda química de oxigênio (DQO) e na bioquímica (DBO) em 5 dias ou na remoção total de carbono orgânico, com taxas médias de remoção de DQO variando de 87 a 93%. A remoção de fosfato foi mais eficiente nos reatores carregados com DAM rica em Fe e Al, resultando em concentrações de fosfato no efluente final inferiores a  $2 \text{ mg.L}^{-1}$ . A remoção de Al, Cu, Fe e Pb dissolvidos foi de 52-84%, 47-61%, 74-86% e 100%, respectivamente, em todos os tipos de DAM sintética. A remoção de manganês e zinco mostrou-se dependente da acidez, com taxas de remoção de DAM ácida abaixo de 10% para ambos os metais, enquanto a remoção de DAM neutra foi em média de 93 a 95% para manganês e de 58 a 90% para zinco. O pré-tratamento

da DAM através da mistura com ED peneirado foi identificado como a melhor opção de processo, pois promoveu a neutralização da DAM, e remoção eficiente de metais e nutrientes.

Outros trabalhos avaliaram diferentes tipos de misturas e processos, envolvendo incubação anaeróbica da mistura e diferentes processos sequenciais, como: biorreatores de fluxo vertical em colunas de fluxo descendente contendo no interior carbonato de cálcio para maior alcalinização da mistura (STROSNIDER *et al.*, 2013b; 2011b), lagoa de mistura e sedimentação, wetland construído de fluxo vertical e wetland construído de fluxo superficial (WANG *et al.*, 2021). Esses estudos evidenciam de diferentes formas o potencial do cotratamento, entretanto um dos maiores empecilhos do tratamento de ED é a recuperação eficiente de nutrientes. Quando o ED é tratado, a remoção de nitrogênio e fósforo muitas vezes permanece insuficiente, levando à eutrofização dos corpos d'água receptores (RAWAT *et al.*, 2011). Nesse cenário, o cultivo de microalgas surge como uma alternativa para a remoção eficiente de nitrogênio e fósforo dessa mistura, além de ter a capacidade de absorver metais, sem a necessidade de produtos químicos (KIM *et al.*, 2000; YANG *et al.*, 2015, CHAI *et al.*, 2021; WOLLMANN *et al.*, 2019). Serão abordados no próximo tópico trabalhos que envolvam o tratamento de drenagem ácida e esgoto doméstico, utilizando microalgas.

## 1.7 Fitorremediação de DAM e ED

As microalgas são microrganismos que realizam fotossíntese, pertencendo a uma ampla diversidade de grupos taxonômicos e apresentando também ampla diversidade metabólica e de composição bioquímica. As microalgas, incluindo-se aqui as cianobactérias, estão entre os principais produtores primários do planeta, sendo responsáveis por cerca de metade da produção primária global. Os sistemas de tratamento de efluentes baseado em microalgas tem se mostrado eficaz na remoção de compostos inorgânicos, tais como nitrato, fosfato, metais pesados, carbono inorgânico, substâncias tóxicas (orgânicas e inorgânicas), DBO, DQO e outras impurezas dissolvidas nas águas residuais por meio de seu mecanismo de absorção ou atuando como adjuvantes para o desenvolvimento de outros microrganismos em consórcio (CHAI *et al.*, 2021; SANCHEZ-ZURANO *et al.*, 2021).

Os principais componentes do esgoto doméstico que causam eutrofização são nitrogênio e fósforo, ambos nutrientes absorvidos e utilizados em abundância pelas microalgas. A absorção de fósforo por microalgas ocorre através da translocação de fosfatos inorgânicos pela membrana plasmática das células. Durante o metabolismo das microalgas, esses fosfatos inorgânicos são

incorporados em compostos orgânicos, como o difosfato de adenosina (ADP), por meio do processo de fosforilação. Esse processo requer energia, que pode ser obtida através da oxidação de substratos respiratórios, do sistema de transporte de elétrons nas mitocôndrias presentes em microalgas eucarióticas, e da luz utilizada na fotossíntese. A fotossíntese, por sua vez, envolve reações fotoquímicas e redox, onde a energia luminosa é utilizada para sintetizar moléculas de armazenamento de energia, como o trifosfato de adenosina (ATP) (EMPARAN *et al.*, 2019). No caso do nitrogênio, ele pode ser encontrado no esgoto na forma de amônia, nitrito e nitrato. A conversão do nitrogênio inorgânico em formas orgânicas é realizada pelas cianobactérias por meio do processo de assimilação. Nesse processo, ocorre a redução do nitrato a nitrito e posteriormente a amônia, essa que pode ser diretamente absorvida pelas microalgas. A etapa primária dessa assimilação envolve a ação da nitrato-redutase, que transfere elétrons da forma reduzida do dinucleotídeo de nicotinamida adenina (NADH) na reação de conversão de nitrato em nitrito. Em seguida, a ferredoxina (Fd) e a nitrito redutase, juntamente com o NADPH produzido na reação de fotossíntese, transferem elétrons na reação de redução do nitrito a amônia. Assim, todas as formas inorgânicas de nitrogênio são reduzidas a amônia no fluido intracelular das microalgas. A amônia é incorporada em aminoácidos dentro do fluido intracelular das microalgas, como a glutamina, através da ação dos ácidos glutâmicos e do trifosfato de adenosina (ATP) liberado da fosforilação (EMPARAN *et al.*, 2019).

No caso da DAM, a elevada concentração de diversos metais é uma das características mais tóxicas desse efluente. Segundo Chalivendra (2014), a remoção de metais pesados por microalgas ocorre por meio de mecanismos de bioadsorção passiva e ativa. Na bioadsorção passiva, os íons metálicos catiônicos são fisicamente adsorvidos na superfície celular das microalgas, que possuem grupos funcionais como hidroxila (-OH), carboxila (-COOH), amino (-NH<sub>2</sub>) e sulfidril (-SH). Já na bioadsorção ativa, os íons metálicos são translocados através da membrana celular para o citoplasma. A presença de polifosfato intracelular em microalgas permite o armazenamento e isolamento de metais como Cd, Co, Hg, Ni, Cu, Ti, Pb e Zn. Esses metais são acumulados em organelas específicas, ligados a compostos como fitoquelatinas e metalotioneínas. A ligação de metal extracelular pode ocorrer por adsorção física, quimissorção, complexação, quelação e redução (SALAM, 2019).

Outrossim, as cianobactérias podem produzir exopolissacarídeos (EPS), que possuem grupos funcionais ionizáveis, como carboxila, fosfórica, amina e hidroxila, que auxiliam na sorção extracelular de íons metálicos (PEREIRA *et al.*, 2011). Estudos realizados por Elsadany

(2018), mostraram que diferentes cepas de microalgas apresentam alta capacidade de remoção de metais pesados em águas residuais, com destaque para *Nostoc ellipsosporum* e *Chlorella vulgaris*. Por fim, uma grande variedade de microalgas já foi identificada em ambientes de DAM ao mesmo tempo que tiveram seus mecanismos de absorção de metais estudados, essas são melhores descritas no trabalho de Novis e Harding (2007).

Pesquisas recentes também estudam a diferentes abordagens de cultura de microalgas em efluentes, como a utilização de cascas de ovos para o pré-tratamento da DAM antes do cultivo (CHOI; LEE, 2015) e a mistura de DAM com efluente proveniente da pecuária, nesse caso focando na produção de biodiesel e não na biorremediação (AHN *et al.*, 2022). De acordo com Choi e Lee (2015), o uso de cascas de ovos calcinadas e microalgas (*Chorella vulgaris*) foi altamente eficaz na remoção de metais pesados da DAM, ao mesmo tempo em que proporcionou uma grande produtividade de biomassa. Os resultados mostraram que a produtividade da biomassa aumentou cerca de 8 vezes, enquanto a remoção percentual dos metais pesados foi de 99,47 a 100%. Esses achados indicam que os sistemas híbridos são soluções promissoras para o tratamento da DAM.

Diversos estudos têm encontrado resultados que descrevem as tecnologias de tratamento de ED e DAM baseadas na participação de microalgas como uma solução alternativa e eficiente aos problemas dos tratamentos convencionais. Essa eficácia decorre da capacidade das microalgas de fixar compostos inorgânicos, como dióxido de carbono e metais pesados (CHEN *et al.*, 2018; KOPPEL *et al.*, 2018, 2019; LI *et al.*, 2020; SUGANYA *et al.*, 2016). Ao mesmo tempo que esses organismos possuem uma alta capacidade de absorção de nutrientes inorgânicos, uma vez que necessitam de nitrogênio e fósforo para a síntese de proteínas, bem como de metais pesados como micronutrientes para o seu crescimento (CHEN *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2020; RATHOD, 2015). Nesse sentido, a utilização de algas como agentes de biorremediação em diferentes tipos de águas residuais tem se mostrado também efetiva na manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido e na redução de patógenos e bactérias fecais presentes (DAS *et al.*, 2019).



## **1.8 OBJETIVOS**

### **1.8.1 Objetivo geral**

Avaliar o potencial de microalgas para a remediação de drenagem ácida de mina de carvão (DAM) e esgoto doméstico (ED) em diferentes abordagens envolvendo processos físico-químicos, químicos e biológicos.

### **1.8.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar quimicamente amostras de DAM da região carbonífera de Santa Catarina;
- Avaliar o efeito de um filtro de conchas de ostras na elevação do pH, remoção de metais e  $\text{SO}_4^-$  de amostras de DAM bruta;
- Avaliar o efeito da mistura de DAM filtrada em filtros de conchas de ostras com ED em variáveis físico-químicas, químicas e biológicas;
- Avaliar o crescimento algal e a remoção de nitrogênio, fósforo, metais,  $\text{SO}_4^-$ , matéria orgânica e coliformes fecais em misturas de DAM filtrada em filtros de conchas de ostras com esgoto doméstico;
- Avaliar o efeito da mistura de DAM bruta com ED na remoção de matéria orgânica e coliformes fecais;
- Caracterizar tapetes algais filamentosos ocorrentes em DAM visando a identificação das algas formadoras e a capacidade de retenção ou remoção de metais pelas mesmas.

## **2 CAPÍTULO 2**

COTRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINA E ESGOTO  
DOMÉSTICO POR PROCESSOS FÍSICO-QUÍMICOS SEGUIDOS DE  
FICORREMEDIAÇÃO

## 2.1 INTRODUÇÃO

A drenagem ácida de mina (DAM) é consequência da exploração de carvão mineral e de minérios metálicos e representa um dos maiores e mais amplamente distribuídos problemas ambientais do planeta Terra (SIMATE; NDLOVU, 2014). A extração e processamento do carvão mineral dá origem a uma série de rejeitos, entre os quais destaca-se a pirita ( $\text{FeS}_2$ ). Quando a pirita é exposta ao oxigênio do ar ou da água, na presença de bactérias oxidantes como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, ela é oxidada, reduzindo o pH da água e, conseqüentemente, produzindo sulfatos, aumentando a solubilidade do ferro, outros metais e metalóides a partir da matriz mineral do solo (KONTOPOULOS *et al.*, 1998). A formação de DAM é incrementada quando os sítios de mineração são abandonados e alagados pelo lençol freático junto das águas pluviais. Os impactos ambientais são expressivos podendo assumir grande escala e comprometer aquíferos, bacias hidrográficas e chegar ao mar, gerando ecotoxicidade e passivos ambientais de difícil recuperação (SONI *et al.*, 2014; PEPPAS *et al.*, 2000).

Os tratamentos de DAM ou a remediação de ambientes contaminados com DAM disponíveis podem ser classificados em tratamentos passivos e ativos (KEFENI *et al.*, 2017). Os tratamentos passivos não demandam sistemas mecanizados, e constam da utilização de canais construídos com rochas alcalinizantes para neutralização da acidez e precipitação de metais (ZIEMKIEWICZ *et al.*, 1997), além de drenos anóxicos de calcário (CRAVOTTA, 2003) e leitos de lixiviação de calcário (BLACK *et al.*, 1999). Os tratamentos ativos envolvem a adição de agentes neutralizantes e processos mecanizados, que requerem operação de longo prazo, sujeita a interferências como o clima e falhas de equipamento (FU; WANG, 2011), além de técnicas emergentes, como adsorção (MOTSI *et al.*, 2009), processos de membrana (RICCI *et al.*, 2015), troca iônica (GAIKWAD *et al.*, 2010), dessalinização alcalina de bário e cálcio (MULOPO, 2015), biorreatores industriais (ROWLEY *et al.*, 1994) e neutralização com biomateriais ricos em carbonato de cálcio (MASUKUME *et al.*, 2014). Descrições mais detalhadas dessas metodologias podem ser encontradas nas revisões de JOHNSON; HALLBERG (2005) e KEFENI *et al.*, (2017).

Uma abordagem promissora envolve o cotratamento, onde a DAM é misturada com esgoto doméstico (ED), gerando vantagens como coagulação mais eficiente (EDZWALD; TOBIASON, 1999), remoção prévia da DBO (STROSNIDER *et al.* 2011a) e maior inativação de patógenos (WINFREY *et al.* 2010) durante o tratamento. Diversas pesquisas têm relatado a

eficácia de sistemas integrados de tratamento de DAM e ED, proporcionando altas taxas de remoção de poluentes, como sulfato e metais pesados (HUGHES; GRAY, 2013b), ao mesmo tempo em que reduz a carga poluente do ED (STROSNIDER *et al.*, 2011a). Entretanto, uma das maiores dificuldades dos sistemas convencionais de tratamento de esgoto é a recuperação eficiente de nutrientes (RAWAT *et al.*, 2011). Nesse cenário, os tratamentos terciários com cultivo de algas ou plantas surgem como uma alternativa economicamente viável e sustentável para a remoção de N, P e matéria orgânica (CHAI *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2020), além de metais, mesmo em baixas concentrações, sem a necessidade de adição de químicos (YANG *et al.* 2015; CHOI; LEE, 2015; KOPPEL *et al.*, 2019). Adicionalmente, o processamento da biomassa algal permite a recuperação de metais e o uso para a produção de biocombustíveis, biofertilizantes, bioestimulantes e uma série de biomoléculas com aplicações biotecnológicas (CHISTI, 2007; KUMAR *et al.*, 2015; GULDHE *et al.*, 2019; GONÇALVES, 2021; NAVARRO-LÓPEZ, 2020).

O objetivo do presente estudo foi desenvolver um sistema de cotratamento de DAM e ED utilizando processos físico-químicos (filtração, precipitação e mistura) e biológicos (crescimento de microalgas sobre soluções pré-tratadas de DAM e ED), buscando ao mesmo tempo a elevação de pH, remoção de metais da DAM e redução de matéria orgânica, nutrientes inorgânicos e patógenos do ED, com conseqüente produção de biomassa útil. O sistema permite variações de procedimento em função das características dos efluentes ou dos objetivos principais de tratamento. Essa iniciativa insere-se nas demandas regionais da região carbonífera de Santa Catarina, no Sul do Brasil, onde a exploração de carvão mineral gera DAM e passivos ambientais há mais de 100 anos e, ao mesmo tempo, dispõe de baixa cobertura de tratamento de esgotos domésticos. Entretanto, o processo pode ser padronizado para quaisquer realidades onde há geração de DAM e ED.

## **2.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.2.1 Resumo geral da abordagem metodológica**

O sistema proposto envolve a passagem de DAM bruta por um filtro de conchas de ostras trituradas para elevação do pH e precipitação de metais, sendo o tempo de detenção hidráulica (TDH) nesse filtro determinado pelo grau desejado de elevação de pH. Posteriormente, a DAM filtrada é decantada e seu sobrenadante é misturado em diferentes proporções com ED previamente decantado visando aprimorar processos de coagulação, remoção de matéria

orgânica, inativação de patógenos do esgoto e enriquecimento nutricional da mistura para otimizar o crescimento de microalgas, que atuarão na remoção de nutrientes e concentrações remanescentes de metais. Também foi avaliado o efeito da mistura de DAM bruta com ED previamente decantado para redução de patógenos e remoção de matéria orgânica no ED. A figura 2.1 apresenta o processo esquematicamente.

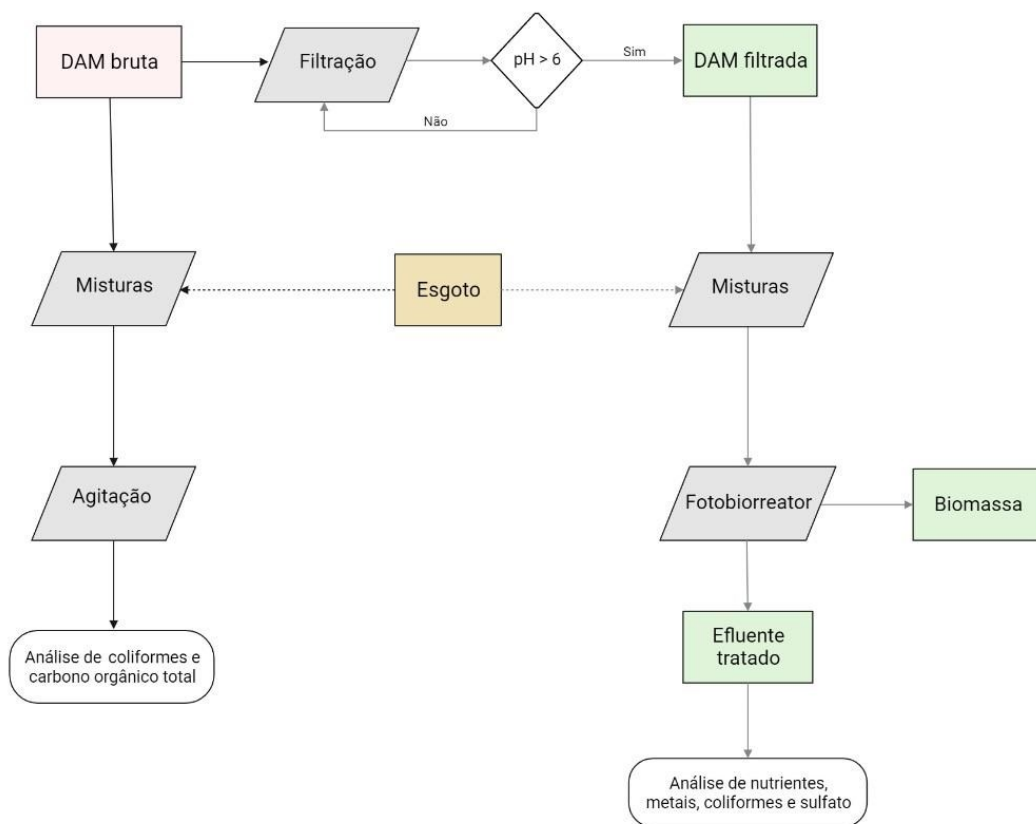


Figura 2.1. Diagrama conceitual do processo de cotratamento de drenagem ácida de mina (DAM) e esgoto doméstico (ED) proposto no presente estudo.

### **2.2.2 Área de estudo**

A região de estudo é a zona litorânea do Estado de Santa Catarina, no sul do Brasil, caracterizada pela intensa produção de DAM na Bacia Carbonífera de Santa Catarina (BCSC) e por uma baixa cobertura de tratamento de esgoto doméstico nas zonas urbanizadas. A BCSC, está localizada entre as latitudes 28°20' S e 28°55' S da região costeira de Santa Catarina e abrange uma área de cerca de 1800 km<sup>2</sup>, estendendo-se sobre diversos municípios (população total estimada: 700.000 habitantes) e três importantes bacias hidrográficas de vertente atlântica (SCHNEIDER, 2006). O carvão extraído nessa região gera em média 65% de resíduos sólidos e 1,5 m<sup>3</sup> de DAM para cada tonelada lavrada. Nos últimos 100 anos as atividades de mineração na BCSC geraram mais de 5000 ha de áreas impactadas e contaminação de quase todos os recursos hídricos regionais, inclusive áreas estuarinas e costeiras (CASTILHOS; FERNANDES, 2011). Paralelamente ao problema da DAM, os municípios dessa região apresentam baixa cobertura de tratamento de esgotos domésticos, tornando ainda mais crítica a situação sanitária.

### **2.2.3 Amostragem e caracterização dos efluentes**

Aproximadamente 100 L de DAM foram coletados em 01 de junho de 2021, na cidade de Siderópolis, SC, Brasil, junto ao sangradouro da lagoa Língua do Dragão (figura 2.2), que recebe DAM de diversas áreas de mineração de carvão. As amostras foram armazenadas em bombonas de 50 litros e transportadas até o Laboratório de Ficologia da UFSC. No ponto de amostragem foram determinados oxigênio dissolvido e temperatura (Oxímetro YellowSpring YSI 5000), pH (pHmetro Thermo Fisher OrionStar A211) e condutividade elétrica (Conduvímetero digital Hanna Instruments Edge HI2003). Alíquotas das amostras foram separadas em tubos de polietileno, para análise de metais (Fe, Mn, Zn, Ni, Cu) e sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), sendo armazenadas no escuro em caixas térmicas com gelo até o processamento em laboratório. Em laboratório, as amostras brutas para análises de metal foram acidificadas com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> até o pH 2. Para a determinação de sulfatos, as amostras foram filtradas em filtros GF/F e congeladas para análise posterior.

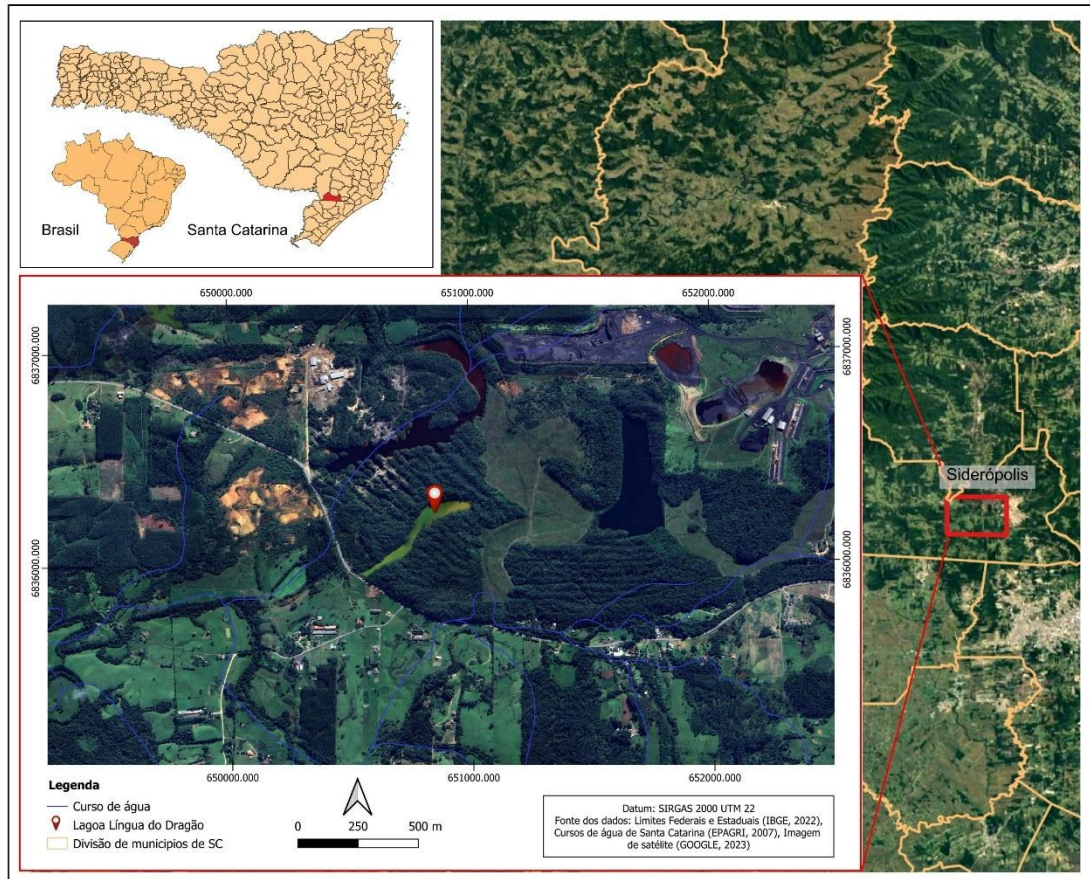


Figura 2.2. Mapa da área de estudo, na Bacia Carbonífera de Santa Catarina, Brasil, indicando o ponto de amostragem de DAM situado na represa Língua do Dragão, município de Siderópolis – SC.

O ED foi obtido na Estação Experimental de Tratamento de Esgoto da UFSC, dirigida pelo Grupo de Estudos em Saneamento Descentralizado (GESAD – UFSC). Foram coletados 90 L e determinados pH (pHmetro Thermo Fisher OrionStar A211), além dos nutrientes  $N-NH_4^+$  e  $P-PO_4^{-3}$  por métodos colorimétricos clássicos (STRICKLAND; PARSONS, 1972). Essas análises foram realizadas pelo GESAD-UFSC e gentilmente cedidas para esse estudo.

### 2.2.4 Tratamento físico-químico da DAM

O tratamento físico-químico da DAM bruta consistiu da filtração através filtros de conchas de ostras, geradas localmente como subprodutos do cultivo de ostras e cedidas pelos maricultores. O filtro foi confeccionado com canos PVC, com dimensões de 60 x 5 cm, e um

suporte de madeira com capacidade para 4 réplicas (figura 2.3). Inicialmente, as conchas foram lavadas em água de torneira e colocadas para secar ao ar livre. Posteriormente passaram por uma trituração manual, até o tamanho de 5 a 10 mesh (2 – 4 mm), visando aumentar a área de contato e adsorção entre as partículas de conchas contendo carbonato de cálcio, e a DAM, para promover o aumento do pH e a precipitação de metais. A seleção dos fragmentos triturados foi feita utilizando-se peneiras granulométricas. O volume total dos filtros de concha foi de 981 mL e a vazão média por gravidade determinada previamente para os filtros foi de 858 mL min<sup>-1</sup>.

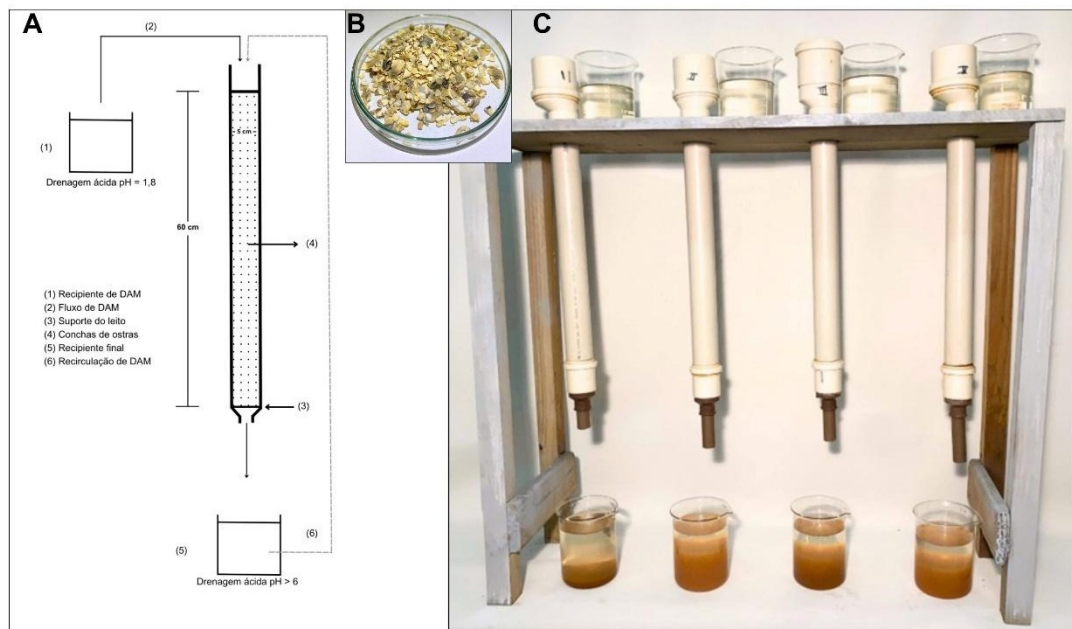


Figura 2.3. (A) Estrutura dos filtros de conchas de ostras utilizados na etapa de tratamento físico-químico da DAM. (B) Aspecto das conchas do meio suporte do filtro (conchas de ostras trituradas com granulometria de 2 a 4 mm). (C) Fotografia dos filtros mostrando o aspecto da DAM antes e depois do processo de filtração.

Foram filtrados 2 L de DAM bruta para uso durante os testes. A filtração se deu por gravidade, sendo feitas recirculações com medições de pH do filtrado até que o pH mostrasse tendência de estabilização. O tempo de recirculação foi convertido em tempo de detenção hidráulica (TDH, equação 2.1), sendo gerada uma curva de regressão entre o TDH e o pH como modelo matemático para incremento do pH. A condutividade também foi monitorada antes, durante e depois das filtrações. Na sequência, a DAM filtrada passou por uma decantação



durante 24 horas. Ao final desse processo o sobrenadante da DAM filtrada foi armazenado em galões em temperatura ambiente para as próximas etapas.

$$TDH (min) = \frac{V}{Q} \quad \text{equação 2.1}$$

Onde,

V = volume líquido do filtro (mL)

Q = vazão líquida do filtro (mL min<sup>-1</sup>)

### 2.2.5 Misturas de esgoto e DAM e teste preliminar de crescimento microalgal

Foram constituídas soluções com várias proporções de mistura de DAM bruta e DAM filtrada com ED (tabela 2.1) buscando avaliar o melhor condicionamento para o crescimento de microalgas. Adicionalmente, também foram testadas soluções puras de DAM bruta, DAM filtrada e ED, além de uma solução controle composta de meio de cultura BBM (ANDERSEN, 2005), que é o meio de manutenção da cepa microalgal utilizada nos testes. Todas as soluções tiveram o pH e a condutividade determinados com os mesmos equipamentos citados anteriormente.

Tabela 2.1. Proporções de DAM bruta (DAM<sub>b</sub>), DAM filtrada (DAM<sub>f</sub>), esgoto doméstico (ED) e meio de cultura nas soluções avaliadas para o teste preliminar de crescimento microalgal. Nas siglas das soluções, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e *b* e *f* indicam bruta e filtrada, respectivamente.

ID da solução	Proporções (%)			
	ED	DAM <sub>b</sub>	DAM <sub>f</sub>	BBM
E <sub>10</sub> D <sub>b90</sub>	10	90	-	-
E <sub>20</sub> D <sub>b80</sub>	20	80	-	-
E <sub>30</sub> D <sub>b70</sub>	30	70	-	-
E <sub>40</sub> D <sub>b60</sub>	40	60	-	-
E <sub>50</sub> D <sub>b50</sub>	50	50	-	-
E <sub>60</sub> D <sub>b40</sub>	60	40	-	-
E <sub>70</sub> D <sub>b30</sub>	70	30	-	-
E <sub>80</sub> D <sub>b20</sub>	80	20	-	-
E <sub>90</sub> D <sub>b10</sub>	90	10	-	-
E <sub>10</sub> D <sub>f90</sub>	10	-	90	-
E <sub>20</sub> D <sub>f80</sub>	20	-	80	-

E <sub>30</sub> D <sub>f70</sub>	30	-	70	-
E <sub>40</sub> D <sub>f60</sub>	40	-	60	-
E <sub>50</sub> D <sub>f50</sub>	50	-	50	-
E <sub>60</sub> D <sub>f40</sub>	60	-	40	-
E <sub>70</sub> D <sub>f30</sub>	70	-	30	-
E <sub>80</sub> D <sub>f20</sub>	80	-	20	-
E <sub>90</sub> D <sub>f10</sub>	90	-	10	-
E	100	-	-	-
D <sub>b</sub>	-	100	-	-
D <sub>f</sub>	-	-	100	-
BBM	-	-	-	100

O teste preliminar consistiu da inoculação de cultivo unialgal de microalgas verdes do gênero *Acutodesmus*, em fase exponencial de crescimento, cedida pelo Laboratório de Cultivo de Algas (LCA – UFSC) e mantidas no cepário do Laboratório de Ficologia (LAFIC - UFSC). Foram selecionadas algumas soluções para o teste de crescimento microalgal levando-se em conta a similaridade dos valores de pH e condutividade com as condições de manutenção da cepa (pH  $\cong$  7.0 e condutividade  $\cong$  900  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) e também a necessidade de redução do número de tratamentos para viabilizar o teste. O teste foi conduzido em erlenmeyers de 250 ml contendo 150 ml de cada solução e 50 ml de inóculo microalgal. Os frascos foram mantidos em agitador orbital com 145 rpm, em câmara de cultivo a 21 °C sob irradiância constante de 70  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (medida com irradiômetro Licor LI-1400, PAR sensor LI-192SA) provida por lâmpadas LED brancas. Medições de pH, condutividade e fluorescência de clorofila-a *in vivo* (Turner Hand Fluorometer) foram feitas no início do experimento, após 72 h e ao final, com 120 h de cultivo. Os resultados de fluorescência de clorofila-a *in vivo* foram utilizados como indicativos de biomassa para o cálculo da taxa de crescimento das microalgas ( $\mu$ ) de acordo com a equação 2.2. As misturas que apresentaram os maiores valores de  $\mu$  foram selecionadas para o experimento em maior escala.

$$\mu = \frac{(\ln Fl_f - \ln Fl_i)}{(\Delta t)} \quad \text{equação 2.2}$$

Onde,

$Fl_f$  = fluorescência *in vivo* de clorofila-a no tempo final

$Fl_i$  = fluorescência *in vivo* de clorofila-a no tempo inicial

$\Delta t$  = tempo de cultivo transcorrido

### **2.2.6 Experimento de fitorremediação – nutrientes, metais, sulfatos e coliformes**

Os testes de crescimento microalgal para a remoção de nutrientes (N-NH<sup>4+</sup> e P-PO<sup>3-</sup><sub>4</sub>), metais (Fe, Mn, Zn, Ni, Cu), sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) e coliformes fecais das soluções selecionadas foram realizados em fotobiorreatores (PBR) de 5 L (frascos tipo Carboy). Cada PBR era provido de um tubo para aeração e uma entrada para coleta de amostras e introdução de sondas de medição. Cada unidade de PBR foi preenchida com 4 L de solução e um inóculo de 400 mL do cultivo microalgal (10%) em fase exponencial de crescimento. Após homogeneização, alíquotas de 150 mL foram retiradas de cada unidade para as análises, a fim de gerar os valores iniciais das variáveis monitoradas. Os PBR ficaram sob aeração constante (ar atmosférico filtrado) e irradiância constante de 110  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$  provida por luz LED branca.

Alíquotas de 150 mL também foram retiradas ao final do tempo de cultivo para a determinação dos valores finais das variáveis. Condutividade, pH e fluorescência de clorofila-a *in vivo* foram determinados no início do experimento, após 72 h e depois a cada 48 h até o tempo final de 240 h. Os valores de fluorescência de clorofila-a *in vivo* foram convertidos em taxa de crescimento (equação 2.2).

### **2.2.7 Efeito da DAM bruta no decaimento de coliformes e matéria orgânica do esgoto doméstico**

A avaliação do efeito da DAM bruta no decaimento de coliformes fecais (indicativo de patógenos) e matéria orgânica do esgoto doméstico foi realizada com 3 misturas: E<sub>40</sub>D<sub>b60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>b40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>b20</sub>. Os testes foram realizados em triplicata utilizando frascos Erlenmeyer de 250 mL, dispostos em mesa agitadora (100 rpm), a 21°C, no escuro ao longo de 6 horas. Alíquotas de cada unidade experimental foram coletadas nos tempos de 1 h, 3 h e 6 h após as misturas para quantificação de coliformes fecais e concentração de carbono orgânico total (COT). Os dados foram utilizados para evidenciar o decaimento desses parâmetros ao longo do tempo de contato das misturas.

### **2.2.8 Análises químicas e colimetria**

Os metais foram quantificados por espectroscopia de emissão com plasma acoplado indutivamente (ICP) (método 3120 B, APHA, 2020). As amostras de nutrientes (N-NH<sup>4+</sup> e P-PO<sup>3-4</sup>) foram filtradas por filtros GF/F e congeladas até a análise, realizada por métodos colorimétricos clássicos adaptados de Strickland & Parsons (1972), com leitura realizada em espectrofotômetro duplo feixe Shimadzu UV 160 A. As concentrações de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) foram determinadas gravimetricamente (APHA, 2020). O COT foi determinado por combustão catalítica, em um Vario TOC Analyzer (Elementar™). Os coliformes fecais foram quantificados pelo sistema Quanti-tray 2000 (Colilert®). Pré análises foram realizadas para definir a diluição adequada das incubações de cada amostra, sendo realizadas as respectivas correções para apresentar os resultados em NMP (número mais provável) por 100 mL.

### **2.2.9 Tratamento de dados**

Todos experimentos e análises foram feitos em triplicatas, exceto o processo de filtração, realizado em quadruplicada, e a partir dos resultados foram calculadas as médias e desvios. Para avaliação da significância dos dados obtidos foi aplicada análise de variância (ANOVA) visando testar as diferenças entre tratamentos, seguida de teste de Tukey para evidenciar em quais grupos a diferença era significativa. Análises de regressão não linear foram realizadas entre os dados de pH e tempo de detenção hidráulica da DAM nos filtros de conchas de ostras, gerando um modelo matemático com capacidade preditiva.

## **2.3 RESULTADOS**

### **2.3.1 Características dos efluentes – DAM e esgoto doméstico**

A DAM amostrada e utilizada nos experimentos apresentou características similares a outros trabalhos realizados na região carbonífera de Santa Catarina. Destacam-se o pH muito baixo (1,8) e as elevadas concentrações de Fe. Metais com maior toxicidade como Cu e Ni mostraram concentrações relativamente baixas (tabela 2.2).

Tabela 2.2. Características da drenagem ácida de mina de carvão utilizada nos experimentos de cotratamento de DAM e esgoto doméstico.

Variável	Valor/concentração
pH	1,8
Condutividade	5,5 mS.cm <sup>-1</sup>
Oxigênio dissolvido	6,38 mg.L <sup>-1</sup>
Sulfatos	5,75 g.L <sup>-1</sup>
Ferro	510,50 mg.L <sup>-1</sup>
Manganês	19,35 mg.L <sup>-1</sup>
Zinco	3,20 mg.L <sup>-1</sup>
Níquel	0,339 mg.L <sup>-1</sup>
Cobre	0,010 mg.L <sup>-1</sup>

O esgoto doméstico utilizado foi caracterizado por análises de rotina do GESAD – UFSC e mostrou as seguintes características: pH = 7,02; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = 152,7 mg.L<sup>-1</sup> e P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> = 34,4 mg.L<sup>-1</sup>.

### 2.3.2 Tratamento físico-químico da DAM

A passagem de DAM pelos filtros de conchas de ostras mostrou-se eficiente para promover a elevação do pH do filtrado. O tempo de detenção hidráulica (TDH) médio do líquido nos filtros foi de  $0,54 \pm 0,052$  min. O pH da DAM aumentou de 1,8 para  $6,23 \pm 0,03$  após 13 recirculações de volumes de 2 L de DAM, ou após um TDH = 7,02 min. O pH permaneceu praticamente estável entre as passagens 14 e 20, o que sugere que o filtro já havia alcançado a capacidade máxima de neutralização química. Entretanto, os filtros não mostraram saturação de sua capacidade de alcalinização de DAM bruta mesmo após a passagem de 30 L em cada unidade. Foi visível durante os processos de filtração a turvação da DAM após as passagens pelos filtros, indicando processo de insolubilização ou precipitação química, inclusive de metais (figura 2.4).

Os dados de pH e TDH foram melhor ajustados em um modelo de regressão exponencial com um  $R^2 = 0,9946$  (figura 4A), sendo possível, pelo menos para a escala testada, determinar o TDH necessário para a elevação do pH até valores próximos a 6,2. O efeito da filtração na condutividade não foi pronunciado, mostrando apenas uma queda nos primeiros momentos (de 5,5 mS.cm<sup>-1</sup> para 4,32 mS.cm<sup>-1</sup> com TDH  $\cong 2,16$  min) e uma posterior tendência à estabilização ou leve elevação, não sendo factível uma relação matemática segura dessa variável com o TDH (Figura 4B).

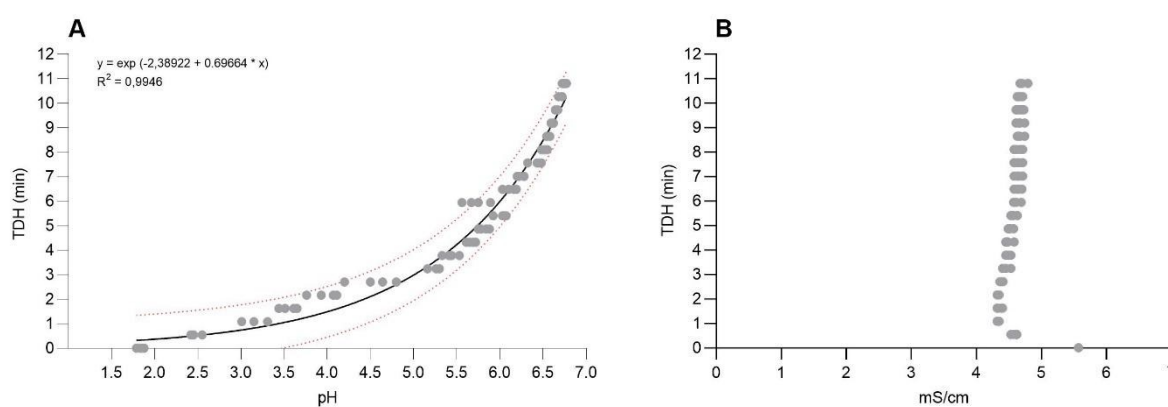


Figura 2.4. Comportamento do pH (A) e da condutividade (B) da DAM bruta em função do tempo de detenção hidráulica (TDH) nos filtros de conchas de ostras.

Em relação aos metais, houve pronunciada remoção de Fe (99%), considerável remoção de Zn (75%) e Ni (65%), baixa remoção de Mn (19%) e ausência de remoção de Cu, cujos valores na DAM bruta já se encontravam próximos do limite de detecção analítico (tabela 2.3). A remoção de sulfatos ficou próxima de 50%.

Tabela 2.3. Concentração de metais e  $\text{SO}_4^{2-}$  antes e depois da filtração. Nas siglas das soluções,  $D_b$  se refere a DAM bruta e  $D_f$  se refere a DAM filtrada.

Variável	Concentração		Remoção (%)
	$D_b$	$D_f$	
Fe ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	510,50	1,55	99,79
Mn ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	19,35	15,60	19,07
Zn ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	3,21	0,87	75,7
Ni ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,339	0,164	65,19
Cu ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,01	0,01	0
$\text{SO}_4^{2-}$ ( $\text{g.L}^{-1}$ )	5,75	2,96	48,52

### 2.3.3 Crescimento algal em misturas de DAM e Esgoto doméstico – teste preliminar

As características físico-químicas das soluções de DAM e ED mostraram comportamentos distintos para as soluções com DAM bruta e DAM filtrada (tabela 2.4). Nas soluções com DAM bruta o pH mostrou incrementos leves até a proporção de 40% de DAM bruta e depois incrementou de forma mais aguda até o valor de 6,14 na proporção com 10% de

DAM bruta, evidenciando a persistência do caráter ácido da DAM mesmo em baixas proporções. Já a condutividade mostrou queda progressiva com o aumento da proporção de esgoto, indicando que o mesmo exerce diluição das concentrações de íons da DAM. Nas soluções com DAM filtrada o pH incrementou levemente com o aumento da proporção de esgoto, passando de 6,26 na proporção de 90% de DAM filtrada para 7,71 na proporção de 10% de DAM filtrada. A condutividade mostrou queda progressiva com o aumento da proporção de esgoto, similarmente ao ocorrido nas soluções com DAM bruta. Em função das características de pH e condutividade, e buscando a redução no número de tratamentos a serem testados, as seguintes soluções foram utilizadas nos testes preliminares de crescimento microalgal: E<sub>40</sub>D<sub>b60</sub>, E<sub>80</sub>D<sub>b20</sub>, E<sub>10</sub>D<sub>f90</sub>, E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub> e E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub>, E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>, E, D<sub>b</sub>, D<sub>f</sub> e BBM (símbolos de acordo com tabela 2.1).

Tabela 2.4. Características físico-químicas das soluções feitas com mistura de DAM e esgoto doméstico. Nas siglas das soluções, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e *b* e *f* indicam bruta e filtrada, respectivamente.

Solução	pH	Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )
E <sub>10</sub> D <sub>b90</sub>	2,23	3,9
E <sub>20</sub> D <sub>b80</sub>	2,32	3,58
E <sub>30</sub> D <sub>b70</sub>	2,42	3,02
E <sub>40</sub> D <sub>b60</sub>	2,54	2,90
E <sub>50</sub> D <sub>b50</sub>	2,55	2,76
E <sub>60</sub> D <sub>b40</sub>	2,73	2,38
E <sub>70</sub> D <sub>b30</sub>	3,38	1,65
E <sub>80</sub> D <sub>b20</sub>	5,02	1,40
E <sub>90</sub> D <sub>b10</sub>	6,14	1,20
E <sub>10</sub> D <sub>f90</sub>	6,26	3,37
E <sub>20</sub> D <sub>f80</sub>	6,67	3,27
E <sub>30</sub> D <sub>f70</sub>	7,27	2,04
E <sub>40</sub> D <sub>f60</sub>	7,29	2,70
E <sub>50</sub> D <sub>f50</sub>	7,39	2,64
E <sub>60</sub> D <sub>f40</sub>	7,46	2,36
E <sub>70</sub> D <sub>f30</sub>	7,56	2,08
E <sub>80</sub> D <sub>f20</sub>	7,59	1,84
E <sub>90</sub> D <sub>f10</sub>	7,71	1,38
E	7,42	1,07
D <sub>b</sub>	1,8	5,50
D <sub>f</sub>	6,0	3,57
BBM	6,9	0,903

A maior taxa de crescimento microalgal foi verificada na solução  $E_{40}D_{f60}$  ( $\mu = 0,238 \text{ dia}^{-1}$ ), seguido pelo ED puro (E,  $\mu = 0,183 \text{ dia}^{-1}$ ) e  $E_{60}D_{f40}$  ( $\mu = 0,182 \text{ dia}^{-1}$ ), porém sem diferenças significativas entre esses tratamentos. As taxas de crescimento dos tratamentos  $E_{80}D_{f20}$  ( $\mu = 0,163 \text{ dia}^{-1}$ ) e meio de cultura puro (BBM,  $\mu = 0,13 \text{ dia}^{-1}$ ) não foram significativamente diferentes entre si, nem com os tratamentos E e  $E_{60}D_{f40}$ . Também não houve diferença significativa entre os tratamentos  $E_{10}D_{f90}$  ( $\mu = 0,10 \text{ dia}^{-1}$ ), DAM filtrada pura ( $D_f$ ,  $\mu = 0,068 \text{ dia}^{-1}$ ) e BBM, e entre  $E_{10}D_{f90}$  e  $E_{80}D_{f20}$ . As misturas com DAM bruta mostraram crescimento negativo ( $E_{40}D_{b60}$ :  $\mu = -0,167 \text{ dia}^{-1}$  e  $E_{80}D_{b20}$ :  $\mu = -0,02 \text{ dia}^{-1}$ ), diferentes entre si e dos demais tratamentos (figura 2.5).

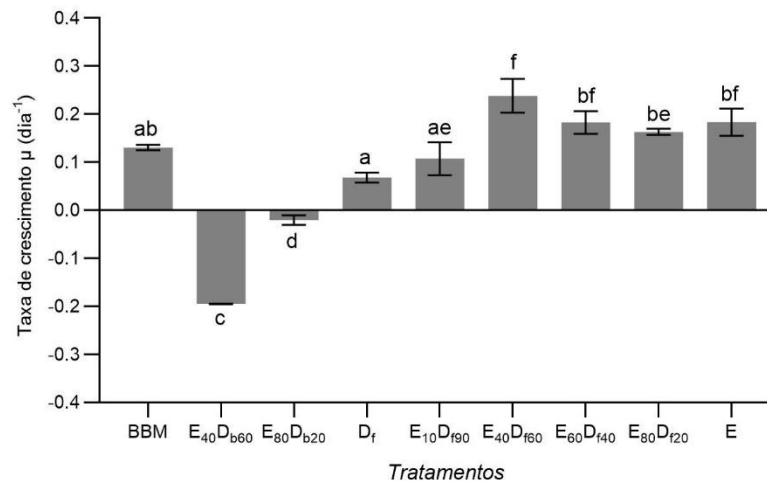


Figura 2.5. Taxas de crescimento microalgal ao longo de 120 h nas diferentes soluções de esgoto doméstico e DAM selecionadas. Nas siglas das soluções, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e *b* e *f* indicam bruta e filtrada, respectivamente.

Durante o experimento preliminar de crescimento microalgal também houve variações no pH e na condutividade. As soluções  $E_{40}D_{b60}$ ,  $E_{80}D_{b20}$  e  $E_{60}D_{f40}$ , mostraram incremento significativo de pH (Figura 2.6A). Em relação à condutividade (Figura 2.6B) somente as soluções contendo DAM filtrada mostraram uma diminuição significativa ao longo da incubação.



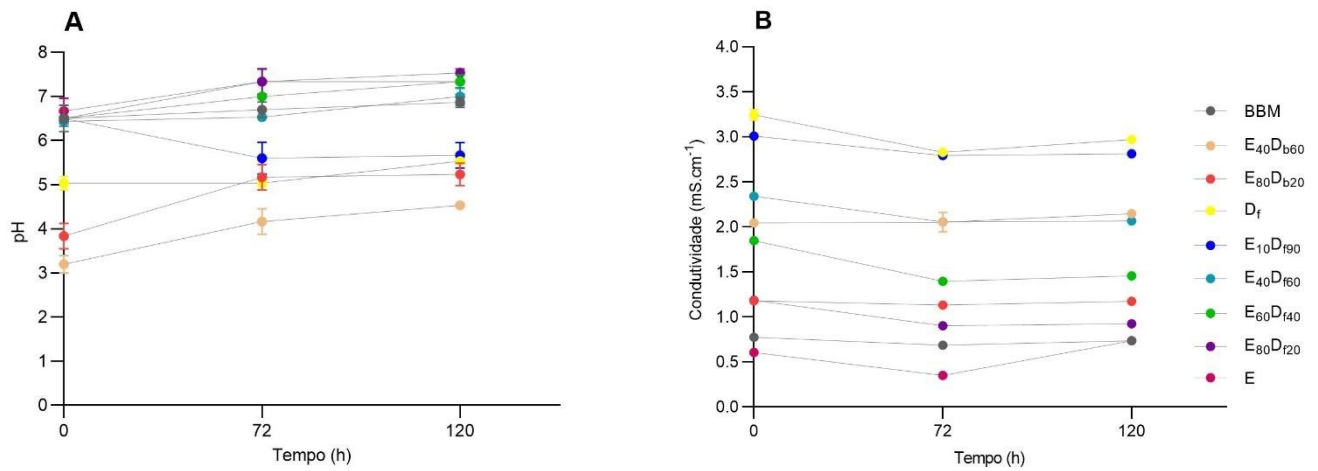


Figura 2.6. Variação do pH (A) e da condutividade (B) nas diferentes misturas ou soluções utilizadas no teste preliminar de crescimento microalgal ao longo de 120 h de cultivo. Nas siglas das soluções, E se refere a esgoto doméstico, D se refere a DAM, os índices numéricos se referem às proporções de cada matriz, e *b* e *f* indicam bruta e filtrada, respectivamente.

Em função desses resultados, foram selecionadas 3 misturas de ED e DAM filtrada para os experimentos de remoção de nutrientes e metais pelo crescimento microalgal: E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>.

## 2.3.4 Experimento de ficorremediação

### 2.3.4.1 Variáveis físico-químicas

O crescimento microalgal ao longo dos 10 dias de incubação não mostrou variações significativas no pH e condutividade das misturas testadas (figura 2.7).

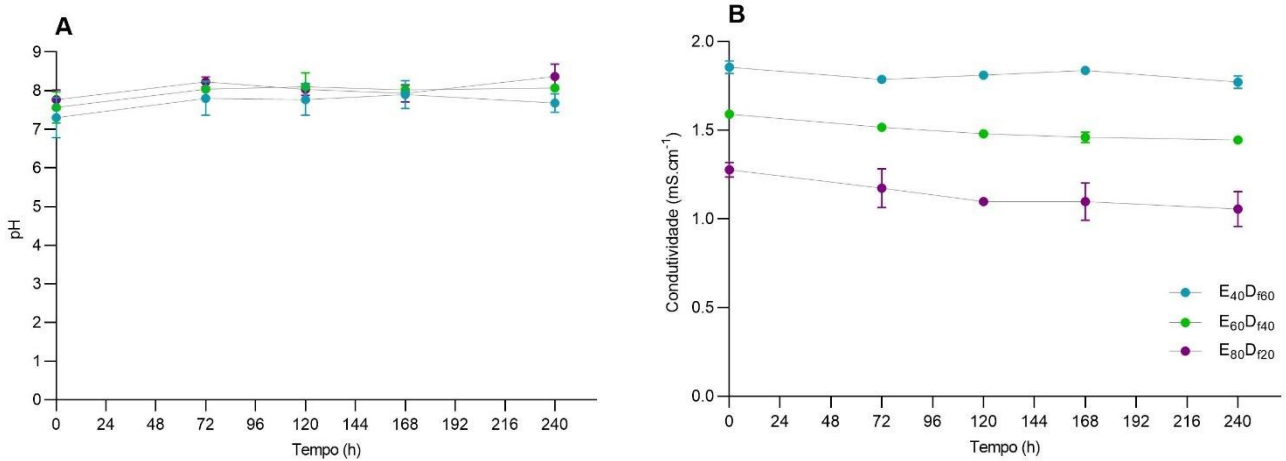


Figura 2.7. Variação do pH (A) e da condutividade (B) em diferentes misturas de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D<sub>f</sub>), ao longo dos 10 dias de cultivo.

### 2.3.4.2 Taxas de crescimento microalgal

As taxas de crescimento microalgal obtidas para as 3 misturas foram maiores do que as verificadas no teste preliminar, não mostrando diferença significativa entre si, com uma média de  $0,4718 \text{ dia}^{-1}$  (figura 2.8).

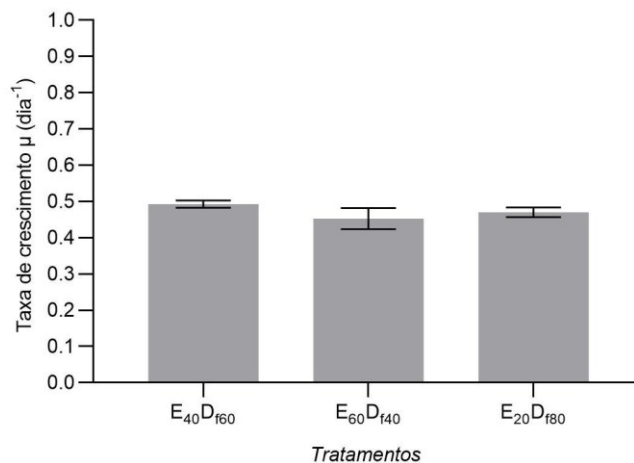


Figura 2.8. Taxas de crescimento microalgal ao longo de 10 dias de cultivo para as misturas de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D<sub>f</sub>). As barras representam o desvio padrão da média (n = 3).

### 2.3.4.3 Remoção de nutrientes

A remoção de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$  ao longo dos 10 dias de crescimento microalgal foi significativa ( $p < 0,05$ ) nas três soluções testadas (figura 9). Para  $\text{N-NH}_4^+$  os percentuais de remoção foram de 81,76; 66,59 e 53,94 %, respectivamente para as soluções  $\text{E}_{40}\text{D}_{f60}$ ,  $\text{E}_{60}\text{D}_{f40}$ ,  $\text{E}_{80}\text{D}_{f20}$  (Figura 2.9A). Para o  $\text{P-PO}_4^{3-}$  os percentuais de remoção foram de 99,8; 99,9 e 99%, respectivamente para as soluções:  $\text{E}_{40}\text{D}_{f60}$ ,  $\text{E}_{60}\text{D}_{f40}$  e  $\text{E}_{80}\text{D}_{f20}$  (figura 2.9B).

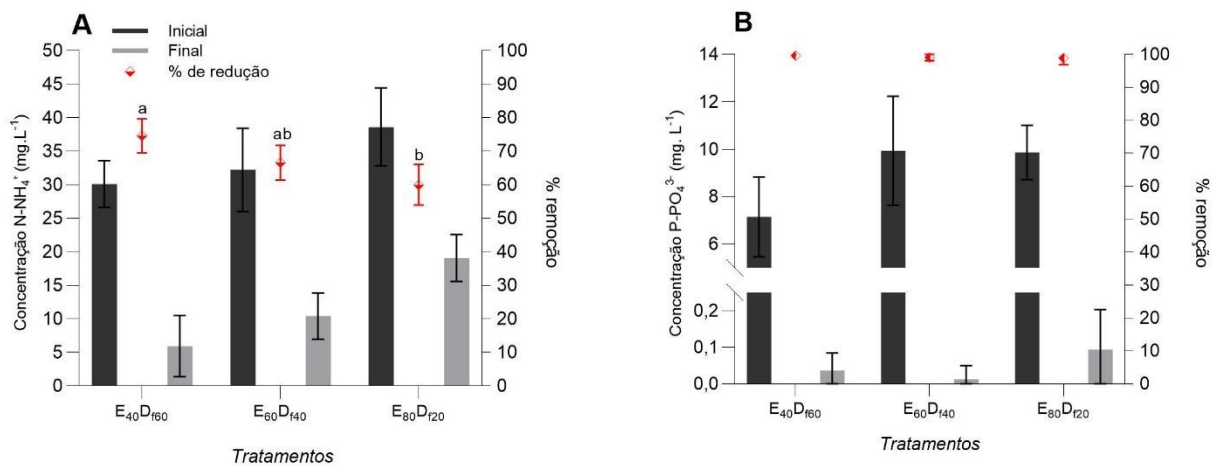


Figura 2.9. Concentrações iniciais e finais de amônio –  $\text{N-NH}_4^+$  (A) e ortofosfato –  $\text{P-PO}_4^{3-}$  (B) nas soluções formadas pela mistura de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada ( $\text{D}_f$ ), com respectivos percentuais de remoção, ao longo dos 10 dias de cultivo microalgal. As barras representam o desvio padrão da média ( $n = 3$ ). Todas as variações foram significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 2.3.4.4 Remoção de metais

Em relação a remoção de metais pelo crescimento algal somente verificaram-se valores significativos para Fe na solução  $\text{E}_{80}\text{D}_{f20}$  (47,2%) e Mn nas soluções  $\text{E}_{40}\text{D}_{f60}$  e  $\text{E}_{80}\text{D}_{f20}$  (24,4 e 41,6%, respectivamente), em relação aos demais metais apesar de terem sido observadas reduções, essas não foram significativas estatisticamente (figura 2.10).

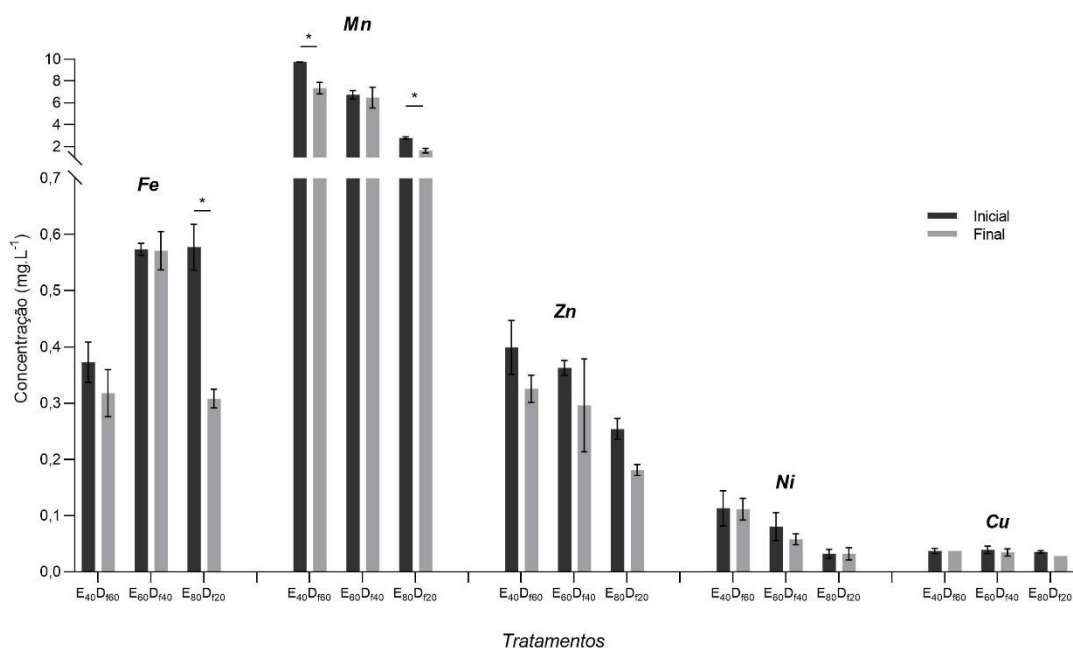


Figura 2.10. Concentrações iniciais e finais de metais nas soluções formadas pela mistura de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D<sub>f</sub>) ao longo dos 10 dias de cultivo. As barras representam o desvio padrão da média (n = 3).

### 2.3.4.5 Redução de Coliformes fecais

A redução de coliformes fecais após 10 dias de crescimento microalgal foi significativa para as três soluções testadas (figura 2.11), indicando provável efeito combinado da toxicidade da DAM com o crescimento algal e o tempo de incubação. O valor inicial de coliformes fecais em todas as soluções foi  $1,21 \times 10^7$  NMP.100 mL<sup>-1</sup> e as reduções foram de 99,9; 98,8 e 98,3%, respectivamente para as soluções E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>.

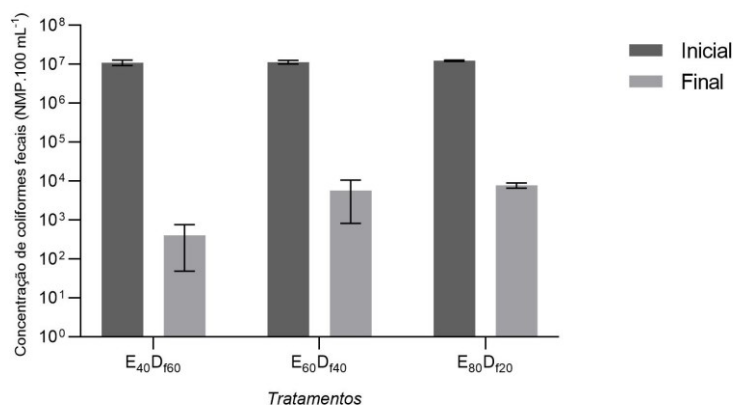


Figura 2.11. Concentração de coliformes fecais (NMP 100 mL<sup>-1</sup>) antes e depois da incubação das misturas de esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D) ao longo de 10 dias de cultivo. As barras representam o desvio padrão da média (n = 3). Todas as variações foram significativas (p < 0,05).

### 2.3.4.6 Remoção de sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)

Os valores iniciais de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foram de 1356, 1620 e 1320 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente para os tratamentos E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>. Após o crescimento de 10 dias dos cultivos de microalgas os valores reduziram para 863,3; 880 e 811,6 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo as reduções significativas (p < 0,05) (Figura 2.12).

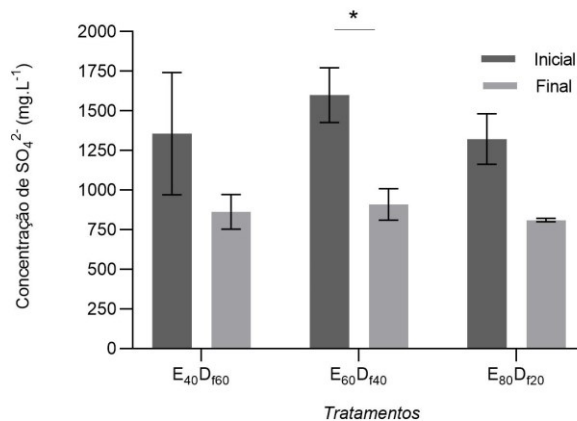


Figura 2.12. Concentração de sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) antes e após 10 dias de crescimento microalgal para diferentes tratamentos de mistura entre esgoto doméstico (E) e DAM filtrada (D<sub>f</sub>). As barras representam o desvio padrão da média (n = 3).

### 2.3.4.7 Decaimento de coliformes fecais e carbono orgânico total em misturas de esgoto doméstico e DAM bruta

Nas misturas entre ED e DAM bruta, verificou-se decaimento acentuado de coliformes fecais na primeira hora para todas as soluções, com o valor inicial de 1,2 x 10<sup>7</sup> NMP 100 mL<sup>-1</sup>, reduzindo na primeira hora para 4,75 x 10<sup>3</sup>; 3,76 x 10<sup>4</sup> e 6,7 x 10<sup>4</sup> NMP 100 mL<sup>-1</sup>, respectivamente nas soluções E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>. Após 3 horas os coliformes fecais não foram detectados na solução E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, e reduziram para 3,22 x 10<sup>3</sup> e 6,43 x 10<sup>3</sup> nas soluções E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>, respectivamente. Ao final das 6 horas experimentais não foram detectados coliformes fecais em quaisquer tratamentos (figura 2.13).

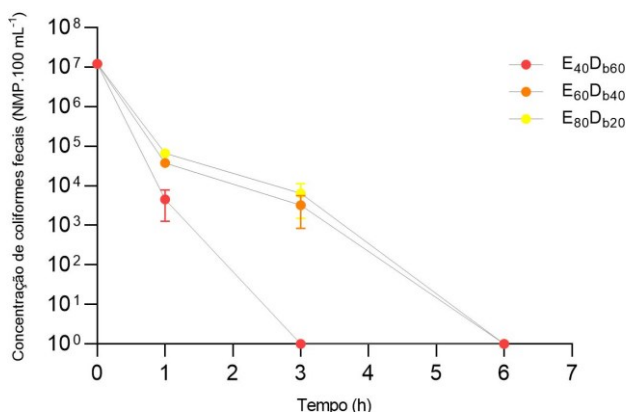


Figura 2.13. Variação de coliformes fecais em três diferentes tratamentos de misturas de esgoto doméstico (E) e DAM bruta (D<sub>b</sub>) ao longo de 6 horas de incubação.

A redução de COT nos tratamentos de misturas de ED e DAM bruta testados foi significativa na primeira hora de incubação, estabilizando depois disso (Figura 2.14). As reduções foram de 49,18; 48,59 e 45,3% na primeira hora, respectivamente para as soluções E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>, E<sub>60</sub>D<sub>f40</sub> e E<sub>80</sub>D<sub>f20</sub>, só havendo redução significativa depois disso até as 6 horas de incubação na solução E<sub>40</sub>D<sub>f60</sub>.

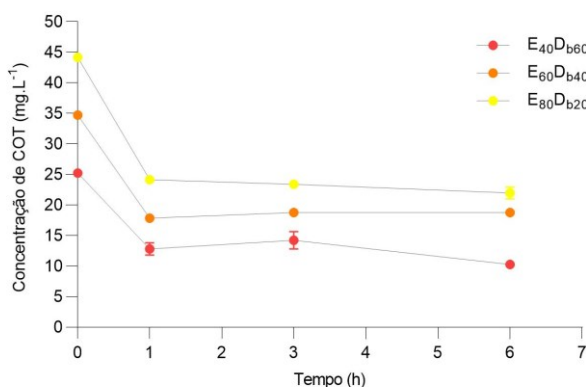


Figura 2.14. Variação da concentração de carbono orgânico total (COT) em 3 tratamentos de mistura de esgoto doméstico (E) e DAM bruta (D<sub>b</sub>) ao longo de 6 h de incubação.

## 2.4 DISCUSSÃO

### 2.4.1 Características da DAM gerada na área de estudo

Algumas características físico-químicas e químicas de drenagens ácidas de minas são comuns entre diferentes locais ao redor do mundo. É o caso do baixo pH (< 4), alta

condutividade, baixa turbidez, acidez total elevada (até 15.000 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> equivalente), baixas concentrações de oxigênio dissolvido e altas concentrações de ferro e sulfatos (AKCIL; KOLDAS, 2006). Outras características estão relacionadas à matriz geoquímica regional, que repercute padrões diferenciados de altas concentrações de outros metais como alumínio, manganês, cobre, chumbo, zinco, cádmio, etc. Adicionalmente, a variação na composição pode ser afetada por padrões sazonais regionais, especialmente a pluviosidade, e pela distância dos pontos de mineração (GALHARDI; BONOTTO, 2016). A DAM avaliada no presente estudo caracterizou-se principalmente pelo pH extremamente baixo, alta condutividade e elevadas concentrações de Fe, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e Mn. Outros trabalhos realizados no mesmo corpo hídrico (Língua do Dragão) e na mesma região mostraram características similares (SILVA *et al.*, 2011), mas variando a concentração dos demais metais, caracterizando diferenças basicamente em componentes que ocorrem em menor concentração. Por outro lado, as características das amostras de DAM utilizadas no presente estudo apresentam concentrações de metais em geral menores do que em outras partes do mundo (tabela 2.5). Entretanto, em todos os estudos fica evidente o potencial poluidor extremamente elevado da DAM. Galhardi e Bonotto (2016) verificaram que os valores de pH, sulfatos e metais da DAM gerada em região carbonífera do Paraná, também no sul do Brasil, ultrapassam em muito os limites estabelecidos pelos padrões legais brasileiros de lançamento de efluentes (CONAMA 2011). Os dados obtidos no presente estudo vão na mesma direção, com valores de pH duas ordens de grandeza maiores e concentrações de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Fe, Cu e Mn, respectivamente, 5750, 34, 100 e 19 vezes maiores que os máximos permitidos. Embora a DAM seja considerada poluição difusa ou não pontual, esses valores chamam a atenção para a gravidade do problema e pela insegurança jurídica associada à atividade carbonífera regional.

Tabela 2.5. Dados de caracterização dos componentes de DAM em diversas partes do mundo e os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Parâmetro	EUA DRUSCHEL <i>et al.</i> (2004)	Chile VITAL <i>et al.</i> (2018)	África do Sul MADZVIRE <i>et al.</i> (2011)	Brasil SILVA <i>et al.</i> (2011)	Limites CONAMA 430 (CONAMA, 2011)
pH	0,71	-	2,48	3,85	5-9
Condutividade (mS cm <sup>-1</sup> )	-	-	-	1,69	-
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	75456	8250	42862	2100	1,0 S*
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	21000	13,4	8158,2	1297	15
Cu (mg L <sup>-1</sup> )	393,7	615	-	-	1,0
Ni (mg L <sup>-1</sup> )	-	-	2,97	-	2,0
Mn (mg L <sup>-1</sup> )	17,02	203	88,22	30	1,0
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	1472,72	68,5	8,36	8,7	5,0

\*o limite na Resolução é para sulfetos.

#### 2.4.2 Efeito do filtro de conchas de ostras sobre as características da DAM

O efeito do filtro de conchas de ostras sobre as características da DAM foi muito expressivo, especialmente na elevação do pH e na remoção de metais e sulfatos. A elevação do pH foi de cerca de 4 ordens de grandeza em apenas 7 min de contato (TDH= 7,02 min), indicando um processo eficiente e passível de modelagem. Porém, houve tendência de estabilização nos valores de pH entre 6 – 6,5, apesar de a capacidade de reação dos filtros com novas cargas de DAM bruta permanecer ativa por mais tempo. Em relação aos metais a remoção variou de mais de 19% para Mn até mais de 99% para Fe, e para sulfatos a remoção foi em torno de 50%.

Aumentos similares de pH seguidos por uma estabilização também foram observados em experimentos de neutralização de DAM com conchas de ostras em bateladas com agitação de 12 a 24 h (GIMENEZ, 2017; MASUKUME *et al.*, 2014). Esses mesmos autores verificaram remoção próxima de 100% para Fe e Al. Ainda, Nguyen *et al.* (2022) utilizaram fragmentos de concha de ostras como substrato para tratamento de DAM em sistemas de wetlands construídos, obtendo incrementos de pH de 4,0 até 8,3 e remoções de Fe e Zn de até 99% e de Cd, Cu, As e Mn entre 48 e 98% em TDHs de 7 dias. Uma vez que o carbonato de cálcio constitui cerca de 90% da composição das conchas de *Crassostrea* spp. (JOHN; MARY, 2016), certamente a alcalinização provém da reação da acidez da DAM por esse componente majoritário das conchas, o que acaba promovendo ao mesmo tempo insolubilização e precipitação de metais.



Nesse processo há formação de hidróxidos metálicos que precipitam diferentemente de acordo com o aumento do pH. Hidróxidos de Al e Fe, por exemplo, começam a precipitar em pHs superiores a 5 e 4, respectivamente. Uma vez que o pH alcançado no processo de filtração foi maior que esses valores, pode-se atribuir essa remoção à precipitação química na forma de hidróxidos. A presença de precipitados turvos e de cor laranja-amarelada na solução também indica a formação de hidróxido férrico. No caso do Mn, a remoção observada pode ser atribuída a mecanismos de sorção na matriz neutralizante, co-precipitação com Fe e precipitação como carbonato, uma vez que o hidróxido de Mn começa a precipitar em pHs superiores a 9, valor que não foi alcançado nos experimentos deste trabalho (FAULKNER, 1996; GIMENEZ, 2017). Isso está de acordo com estudos anteriores que também atribuíram a remoção de Mn por calcita biogênica à adsorção (MASUKUME, 2004).

O comportamento da condutividade não seguiu um padrão claro no processo de filtração, mas mostrou uma queda aguda inicial, no primeiro minuto de TDH, posteriormente estabilizando ou voltando a subir levemente. Uma vez que a condutividade está relacionada com a quantidade de sais dissolvidos, provavelmente houve uma remoção inicial de íons metálicos, mas a ação solubilizadora dos ácidos sobre os componentes das conchas repôs outros tipos de íons caracterizando essa estabilização ou recuperação nos valores. Vários autores reportam a inexistência de correlação entre condutividade e pH, seja em amostras de DAM como ao longo de processos de tratamento da DAM (GRANDE *et al.*, 2005; 2010; LIEW; SHEPPARD, 2001). A remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  pode estar, ao menos em parte, associada a dissolução da calcita presente nas conchas, que gera a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  o qual, ao entrar em contato com o  $\text{SO}_4^{2-}$  da DAM, provoca precipitação como  $\text{CaSO}_4$  (OFFEDDU *et al.*, 2015). Este sal precipitado pode cobrir a calcita superficial interferindo na sua dissolução posterior. Nessa situação o processo de filtração que gera fluxo de DAM sobre o leito de conchas pode ser vantajoso sobre processos em batelada não agitada, onde a DAM fica eventualmente em contato estático com o material carbonático.

A filtração também determinou uma redução na toxicidade da DAM, verificada no teste preliminar de crescimento algal, visto que as misturas com DAM filtrada resultaram em elevadas taxas de crescimento algal e as soluções com DAM bruta resultaram em taxas de crescimento negativas. Pereira *et al.* (2020) avaliaram a redução da toxicidade de amostras de DAM sobre o desenvolvimento do peixe-zebra (*Danio rerio*) por processos de neutralização. Além da elevação do pH, o processo mostrou-se muito eficiente devido a elevada capacidade

de remoção de metais e  $\text{SO}_4^{2-}$ . Dos Santos *et al.* (2020), similarmente, descrevem o decréscimo da toxicidade da DAM em *Daphnia magna* e *Allium cepa* após a neutralização. Tolonen *et al.* (2014), relataram a neutralização de DAM a partir de quatro tipos de resíduos industriais e observaram que todos os resíduos testados removeram 99% de Al, As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn e 60% de sulfato de amostras de DAM. Essas evidências demonstram o potencial da utilização de resíduos carbonáticos para a neutralização da DAM como um processo sustentável e eficiente de remediação.

### 2.4.3 Efeitos das misturas de ED e DAM

As misturas de esgoto doméstico e DAM bruta e filtrada geraram incremento de pH e diminuição da condutividade ao mesmo tempo que possibilitaram o crescimento algal, indicando não só a redução da toxicidade da DAM, mas a transformação de efluentes, desde que misturados em determinadas proporções, em meios adequados para crescimento de biomassa potencialmente útil, ao mesmo tempo em que se processou a remoção de nutrientes e outros resíduos.

O potencial de espécies de microalgas verdes da família Scenedesmaceae no tratamento de efluentes, assim como sua robustez competitiva para manter-se dominante mesmo em sistemas de cultivo abertos sujeitos a contaminação são bem conhecidos na literatura. Por exemplo, Sanchez-Zurano *et al.* (2021), crescendo *Scenedesmus almeriensis* com esgoto doméstico primário em sistemas raceway de até 17 m<sup>3</sup> alcançaram taxas de produção de biomassa comparáveis a cultivos com meios de cultura padronizados. A espécie foi capaz de crescer em consórcio com elevada diversidade de bactérias, além de outras espécies de microalgas contaminantes, sem perder a dominância. Similarmente, Silambarasan *et al.* (2023) obtiveram ótimo crescimento de *Scenedesmus* sp. em reatores de 500 mL com 75% de esgoto doméstico bruto. Santos *et al.* (2020), avaliaram o crescimento de *Scenedesmus* sp. em DAM tratada quimicamente com e sem nutrientes, obtendo ótimo crescimento nos tratamentos com nutrientes. No presente trabalho, já nos testes preliminares foi possível verificar a capacidade da cepa utilizada para crescer em diferentes misturas de ED e DAM filtrada, porém a DAM bruta, mesmo em mistura, gerou crescimento negativo para a mesma. O crescimento negativo não tão severo no tratamento E<sub>80</sub>D<sub>20</sub> em relação ao E<sub>40</sub>D<sub>60</sub> sugere diminuição da toxicidade com o aumento da proporção de esgoto doméstico, mas não sua eliminação. Porém, a elevação do pH de 2,54 para 5,02, respectivamente nos tratamentos E<sub>40</sub>D<sub>60</sub> e E<sub>40</sub>D<sub>60</sub> também pode ser

a causa. Em testes de crescimento da cepa usada nesse trabalho com meio de cultura BBM em pH 5,5 foi verificado crescimento satisfatório (dados não publicados). Assim, os dados aqui gerados não permitem afirmar se a causa da ausência de crescimento, ou toxicidade, esteve relacionada ao baixo pH, às elevadas concentrações de metais ou a ambas características da DAM bruta, mas indicam a necessidade do pré-tratamento da DAM para viabilizar o crescimento algal no processo ora proposto. Outro fato a destacar é que em outros trabalhos envolvendo cotratamento de ED+DAM (MASSANDI, *et al.*, 2022) e ficorremediação (AHN *et al.*, 2022), têm sido utilizadas concentrações de DAM bruta menores que as testadas no presente estudo (5-10%). Certamente isso se deve ao condicionamento da DAM pelo processo de filtração com conchas de ostras.

#### **2.4.4 Efeitos do processo de ficorremediação**

Em relação a remoção de nutrientes, que foi avaliada somente nos testes com os fotobiorreatores de maior volume (4 L), os resultados obtidos foram notáveis, com remoção de 82 % de  $\text{NH}_4^+$  e 99%  $\text{PO}_4^{3-}$ . Nos estudos já citados acima Sanches-Zurano *et al.* (2022) obtiveram 90% de remoção de N e P, e Silambarasan *et al.* (2023) obtiveram 88-96% de remoção de COD, N e P. Poucos estudos citam remoções de P de até 99%, porém tais valores devem estar relacionados às condições adotadas no experimento aqui descrito, com fotobiorreatores otimizados, com aeração, luz constante e avaliados ao longo de 10 dias. Certamente as condições mais variáveis de cultivo em sistemas abertos e de maior escala interferem negativamente nas taxas de crescimento e na remoção de nutrientes, mas ainda que as taxas sejam menores em sistemas de maior escala, o processo sugere ser bastante efetivo. É também possível que alguns elementos presentes na DAM (eg. metais), quando diluídos, possam ser benéficos para as microalgas, gerando eventualmente maiores taxas de crescimento e remoção de nutrientes. Essa situação foi verificada por Ahn *et al.* (2022), que mostraram que presença de baixas concentrações de DAM (5-10%) proporcionou maior crescimento e aumento na produção de lipídeos em *Nephroselmis* sp. e *Acutodesmus obliquus*, espécies avaliadas para a produção e biodiesel. Os autores sugeriram que a elevada concentração de Fe na DAM foi o principal fator de influência positiva, uma vez que esse é um metal essencial na nutrição de microalgas, sendo necessário, no entanto, diluição. No processo aqui proposto a concentração de DAM pode ser de até 80%, desde que a mesma passe pelo pré-tratamento de filtração em conchas de ostras e macronutrientes como P e N sejam fornecidos pela mistura com esgoto

doméstico. Ou seja, ao invés de diluir a DAM, removem-se os excessos de Fe e outros metais através dessa filtração, condicionando-se a mistura para o crescimento algal.

Quando comparados aos processos de tratamento convencional de esgotos, como sistemas de lodos ativados e lagoas de estabilização, os resultados obtidos no presente trabalho se mostram mais eficientes. As remoções típicas de nutrientes em sistemas de lodos ativados giram em torno de 15 – 40 % para N e 10 – 45 % para P, enquanto em lagoas de estabilização variam de 30 – 50 % para N e 20 – 60 % para P, somente atingindo remoções maiores com processos terciários avançados (VON SPERLING, 2007). Interessante ressaltar que o processo aqui avaliado é inteiramente biológico, podendo gerar biomassa útil, o que é mais sustentável que sistemas terciários de tratamento baseados em processos químicos como a precipitação, que gera poluição secundária.

Muitos estudos comprovam a capacidade das microalgas de removerem metais de soluções, tanto por adsorção na superfície como por absorção biológica. Ben & Baghour (2013), agruparam em uma revisão estudos sobre a capacidade de absorção de quatorze espécies de algas para contaminantes de metais pesados de DAM. O estudo destaca que certas espécies apresentam características de "hiperacumuladoras" ou "hiperabsorventes", demonstrando alta seletividade para metais específicos. No presente trabalho esse efeito não foi evidenciado de forma significativa (somente para Mn e para Fe em uma solução), principalmente pela baixa concentração inicial que as soluções de DAM<sub>f</sub> e ED apresentavam, em função da redução já causada pelo processo de filtração. No estudo de Elsadany (2018), que cultivou microalgas em efluentes têxteis, observou-se remoção em torno de 90% da concentração de Fe, entretanto os valores finais (1 a 3 mg L<sup>-1</sup>) estão abaixo dos valores iniciais de Fe nas soluções analisadas no experimento de fitorremediação do presente trabalho (~ 0,5 mg L<sup>-1</sup>), isso também foi evidente para o Cu. Choi e Lee (2015), utilizando um sistema híbrido de cultivo de *Chlorella vulgaris* associado a fragmentos de cascas de ovos para tratamento de DAM obtiveram remoções de 97 a 99% para Fe, Cu, Zn e Mn com concentrações iniciais de 27,14 mg L<sup>-1</sup>, 4,03 mg L<sup>-1</sup>, 3,90 mg L<sup>-1</sup> e 2,01 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. É importante pontuar que o processo de adsorção e absorção de metais por microalgas, assim como a toxicidade dos metais, são bastante influenciados pelo pH do meio (PETERSON *et al.*, 1984). Em pHs fortemente ácidos a maior parte dos metais está mais solúvel, potencializando efeitos tóxicos. Por outro lado, o H<sup>+</sup> compete com os íons metálicos livres pelos sítios de ligação celular, o que tanto pode atuar como um mecanismo de defesa contra a entrada desses metais nas células como acaba por bloquear os processos de

adsorção ou absorção, e logo impede a remoção dos metais pelas algas (DAS *et al.*, 2009). Este fenômeno pode em parte explicar a sobrevivência de espécies acidófilas em DAM, como é o caso de *Chlamydomonas acidophila*, *Ulothrix* spp., *Mougeotia* spp. e outras, mas o baixo potencial de remoção de metais dessas espécies em pHs fortemente ácidos (SOUZA *et al.*, 2017; MASSOCATO *et al.*, 2018; DAS *et al.*, 2009). Assim, uma adequada remoção de metais por microalgas tende a ocorrer em pHs levemente ácidos ou próximos a neutralidade, o que aumenta a importância de pré-tratamentos para elevação do pH. Por outro lado, as microalgas e outros microrganismos apresentam a capacidade de remover metais em solução mesmo em concentrações baixas, mas ainda potencialmente tóxicas, ao passo que processos físico-químicos são mais eficientes para reduzir concentrações elevadas, mas não quando esses estão em baixas concentrações (KAPLAN, 2004).

Em relação aos coliformes fecais remanescentes nas misturas de DAM filtrada e esgoto doméstico durante o experimento de biorremediação, foi possível observar uma redução de cerca de 99% desse parâmetro ao final dos 10 dias de cultivo de microalgas. Isso possivelmente ocorreu pela ação conjunta de alguns fatores, como a mistura com a DAM<sub>f</sub> (que modifica o pH e aumenta a concentração de metais e SO<sub>4</sub><sup>-</sup> do meio) (PEPPER *et al.*, 2000), a iluminação constante (CHRTEK; POPP, 1991), a conjugação com óxidos de ferro floculados com material orgânico (VIGNESWARAN; VISVANATHAN, 1995), e a geração de espécies reativas de oxigênio, tanto pela aeração quanto pela produção de O<sub>2</sub> fotossintético pelas microalgas. Entretanto, o tempo de cultivo de 10 dias para obter essa redução pode ser excessivo em um eventual aumento de escala, especialmente se comparado ao efeito similar de redução de coliformes obtido nas misturas de esgoto doméstico com DAM bruta (3 a 6 h).

#### **2.4.5. Efeitos da mistura de DAM bruta e esgoto doméstico**

As misturas de DAM bruta com esgoto doméstico, reduziram de forma rápida os coliformes fecais, mostrando severo efeito de desinfecção da DAM sobre potenciais patógenos presentes no esgoto doméstico. Além disso, as misturas também se mostraram eficientes na redução de carbono orgânico total (COT). Em condições apropriadas, na mistura de DAM com esgoto doméstico, as bactérias redutoras de enxofre convertem o sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) em sulfeto (H<sub>2</sub>S), catalisando a oxidação do carbono orgânico acoplada à redução do sulfato, onde o carbono orgânico é convertido em CO<sub>2</sub> (PEPPAS *et al.*, 2000). Ou seja, a matéria orgânica atua como doadora de elétrons nesses processos de oxidação. A rápida remoção de carbono orgânico

verificada nesse processo de mistura (em torno de 50% em apenas uma hora) é equivalente a remoção esperada em muitos processos anaeróbios de tratamento de esgoto convencional que operam em velocidades mais lentas. Ou seja, a simples mistura de DAM bruta com esgoto doméstico também pode atuar na remoção de matéria orgânica dos esgotos.

Uma vez que a redução de coliformes foi menos eficiente nas misturas de ED com DAM filtrada, uma possibilidade a ser testada seria realizar as misturas de DAM bruta com esgoto doméstico, ou seja, utilizar a DAM antes do processo e filtração, explorando o efeito mais drástico da DAM bruta sobre os coliformes, para depois processar o condicionamento das misturas, procedendo na filtração. Entretanto, pode ocorrer perda de nutrientes para as algas com esse procedimento, seja por oxidação rápida da matéria orgânica ou por eventual adsorção e coprecipitação com os metais pesados.

De qualquer maneira, ficou evidenciado que o conjunto de processos testados nesse estudo, envolvendo filtração da DAM, misturas de DAM e ED e aplicação de ficorremediação, foi efetivo para a remediação de ambos os tipos de efluentes, podendo compor um processo integrado de cotratamento simples, eficaz, sustentável e de baixo custo.

## 2.5 CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a redução de metais, sulfato, nutrientes, coliformes, condutividade elétrica e aumento do pH da solução de DAM com ED, a partir de processos de filtração, mistura, decantação e ficorremediação. O filtro de concha de ostras aumenta o pH da DAM para valores acima e 6 com 7,02 min de tempo de detenção hidráulica, ao mesmo tempo que reduz os metais, sulfatos e a toxicidade da DAM. A mistura de DAM bruta com ED nas proporções testadas reduz a toxicidade, mas não o necessário para permitir o crescimento algal, coliformes fecais e matéria orgânica. A mistura de DAM filtrada com ED fornece as condições adequadas para o crescimento algal, e a partir deste crescimento ocorre a redução de P e N, e em alguns casos, metais. Esses resultados demonstram a eficiência de abordagens sustentáveis de cotratamento e ficorremediação para esses efluentes e que podem ser aplicadas em diversos contextos regionais.

### **3 CAPÍTULO 3**

CARACTERIZAÇÃO DE UM TAPETE DE ALGAS FILAMENTOSAS  
EXTREMÓFILAS OCORRENTE EM DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO NA  
REGIÃO DE CRICIÚMA, SC

### 3.1 INTRODUÇÃO

A Drenagem Ácida de Mina (DAM) é o principal problema ambiental gerado pela atividade humana de mineração de carvão, comprometendo grandes áreas e que adquirem características extremas para a vida (GRAY, 1997). Devido às reações químicas de formação da DAM que ocorrem nas superfícies de minerais sulfatados, é formado um efluente altamente ácido que dissolve metais presentes na matriz geológica. Assim, a DAM, além de ser um problema hidrológico, pode afetar superfícies, solos, sedimentos dos rios e até a zona costeira marinha, gerando colapso ecológico (GRANDE *et al.*, 2005).

A toxicidade da DAM resulta em uma série de efeitos prejudiciais para a vida aquática. Nos corpos hídricos afetados pela DAM, ocorre uma perda significativa de espécies e mudanças estruturais em organismos de água doce, bem como uma perda geral de diversidade de espécies e abundância de macroinvertebrados (DENICOLA; STAPLETON, 2014; CLAPCOTT *et al.*, 2016; GRAY; DELANEY, 2008). A DAM é responsável pela diminuição da diversidade de algas, fazendo sobressaírem algumas poucas espécies extremófilas (HARDING; BOOTHROYD, 2004; VALENTE *et al.*, 2016; RUGGIU *et al.*, 1997; LUÍS *et al.*, 2009, 2013, 2016).

Diversos estudos realizados em diferentes regiões do mundo, incluindo o Rio Hocking (Ohio, EUA), Rio Tinto (Espanha), Nova Zelândia e a Bacia Carbonífera de Santa Catarina (BCSC, Brasil), identificaram diferentes gêneros de algas unicelulares e filamentosas que são capazes de sobreviver em ambientes extremos de águas altamente ácidas e contaminadas por metais. Entre esses gêneros destacam-se *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Cyanidium*, *Dunaliella*, *Euglena*, *Klesormidium*, *Microspora*, *Mougeotia*, *Ulothrix*, *Stigeoclonium*, *Zygnema*, *Microthammion*, além de diversas diatomáceas (LÓPEZ-ARCHILLA *et al.*, 2001; AMARAL, 2002; VERB *et al.*, 2001; NIYOGI *et al.*, 1999, 2002; NOVIS, 2006; BRAY, 2007; FREITAS *et al.*, 2010). Estudos anteriores realizados pelo LAFIC - UFSC na BCSC elencaram 22 espécies de microalgas para a região, entre algas verdes, diatomáceas, crisofíceas e euglenóides, sendo que algumas dessas espécies foram isoladas e estão sendo mantidas no cepário do LAFIC para diferentes estudos, como é o caso das cepas de *Euglena mutabilis* e *Chlamydomonas acidophila* LAFIC-004 (SOUZA *et al.*, 2017; PHILIPPI, 2014).

Nesse cenário, essas algas contribuem para a produção aprimorada de oxigênio e carbono orgânico, reduzindo as condições oligotróficas de águas poluídas pela DAM e aumentando a atividade oxidativa de bactérias quimiolitototróficas aeróbicas e bactérias heterotróficas



(NOVIS, 2006; DEAN, 2019; DIÁZ, 2020; AGUILERA *et al.*, 2020). Essas algas também podem apresentar elevada retenção de metais na sua biomassa, como demonstrado por Freitas *et al.* (2010, 2011). Esses aspectos são relevantes para o contexto da poluição gerada pela DAM e podem fornecer novas possibilidades para o desenvolvimento de estratégias de remediação e monitoramento ambiental.

A compreensão da diversidade de espécies de algas presentes nesses ambientes extremos pode fornecer informações importantes sobre sua capacidade de adaptação e tolerância a condições adversas, bem como sua contribuição para a descontaminação da água. O presente estudo tem como objetivo descrever as características de um ambiente afetado pela DAM e avaliar a capacidade de acumulação de metais de um tapete de algas filamentosas encontrado em ambiente de DAM da região de Urussanga, Estado de Santa Catarina, Brasil.

## **3.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.2.1 Caracterização da área de estudo**

A área de coleta do tapete algal em questão está situada em um sistema de reflorestamento, em uma área previamente explorada pela mineração de carvão por mais de 50 anos, na cidade de Urussanga, Santa Catarina (figura 3.1). O corpo hídrico onde a alga foi coletada apresenta características típicas de ambientes de drenagem ácida, com presença de sedimentação metálica e ausência de fauna aquática. A topografia da região é basicamente formada por grandes elevações reflorestadas formadas por rejeitos da mineração e uma camada de argila. Os fluxos de DAM são formados pela percolação de águas pluviais, misturadas com fluxos fluviais, que drenam minas afogadas, onde ocorrem as reações que levam a produção de DAM. A coleta de água e do tapete algal foi realizada no dia 21/06/2021 em um fluxo de DAM de aproximadamente 10 cm de profundidade.

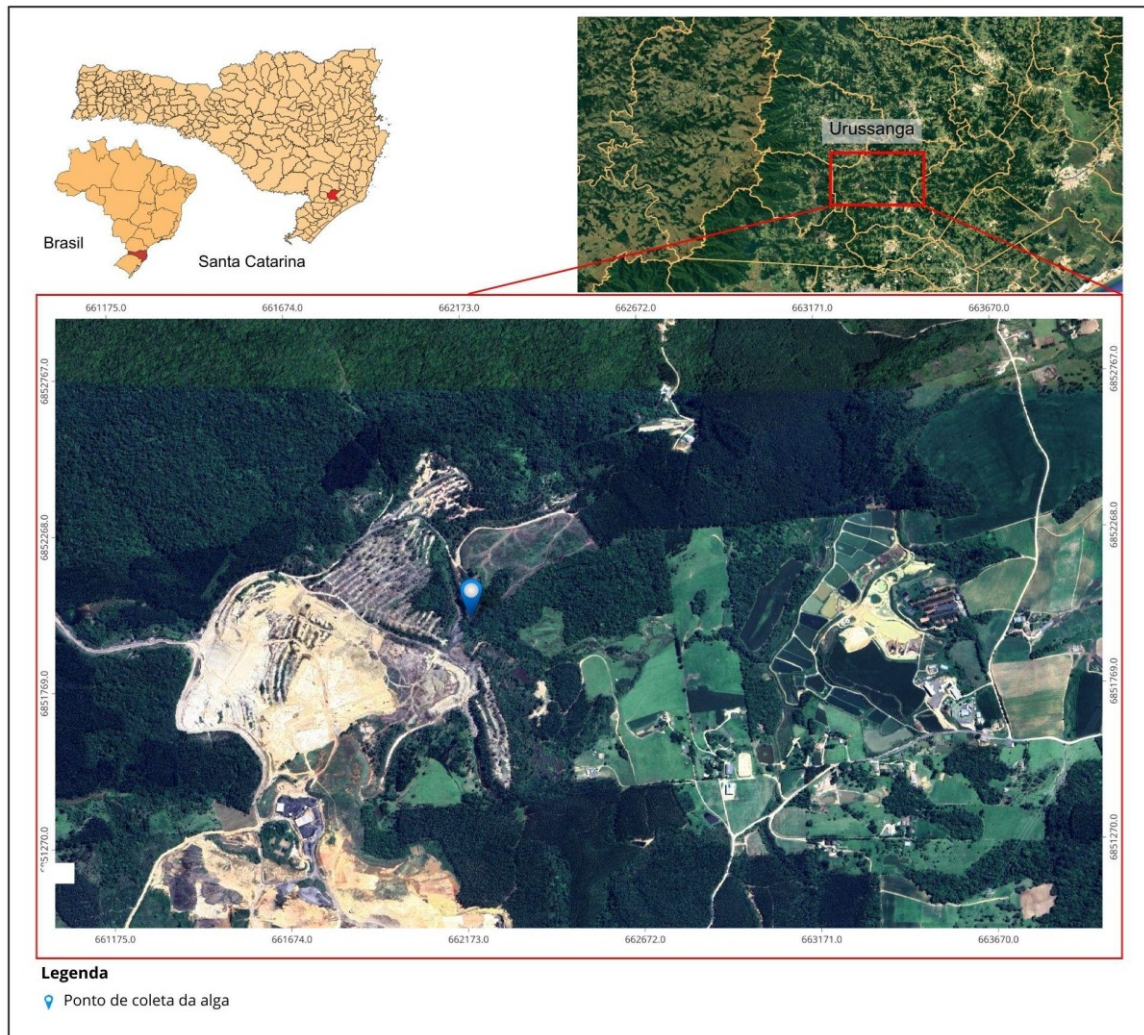


Figura 3.1. Mapa da área de estudo na região de Urussanga, Santa Catarina, Brasil, indicando o ponto de coleta do material algal.

### 3.2.2 Coleta e processamento de amostras

No momento da coleta foram determinados *in situ* as variáveis físico-químicas pH, condutividade e temperatura. A água do local foi também coletada para posterior análise de metais com auxílio de balde, sendo acondicionada em frascos de polietileno novos de 1 L, mantidos em isopor com gelo no escuro até o laboratório, onde foram acidificadas até pH 2,0 com  $H_2SO_4$ . A coleta do tapete algal foi realizada manualmente, utilizando luvas. O material

coletado foi também armazenado em tubos falcon de polietileno estéreis devidamente identificados e mantidos em isopor no escuro a temperatura ambiente. No laboratório, alíquotas das amostras do material algal (biomassa) foram separadas para manutenção em cultivos vivos, para posteriores análises físico-químicas e químicas da biomassa e para análises microscópicas. Para a manutenção dos cultivos vivos, frações de cerca de 10 g de filamentos foram inoculadas em frascos acrílicos para cultura de tecidos com 500 mL, preenchidos com cerca de 350 mL de meio de cultura MAM (Meio Ácido Modificado, conforme Souza et al., 2016) e mantidos em fotoperíodo de 12 h com cerca de  $80 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . As amostras para análises físico-químicas e químicas foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para processamento posterior. Para as análises microscópicas, alíquotas foram observadas *in vivo* em microscópio óptico e outras foram fixadas com formol a 2%. Adicionalmente, parte das amostras mantidas vivas foram posteriormente processadas para observação em microscópio eletrônico de varredura (MEV) a fim de detalhar aspectos da morfologia superficial das células e identificar a impregnação de metais nas paredes celulares, sugerida pela coloração alaranjada do material observada em campo.

### **3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do material algal**

O processamento do material algal para a análise em MEV incluiu a fixação das amostras com glutaraldeído, desidratação em soluções crescentes de etanol e secagem em ponto crítico. As amostras secas foram, então, cobertas com ouro e analisadas em MEV (JEOL JSM-6390LV Scanning Electron Microscope) acoplado com espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDX), que permite a identificação de metais adsorvidos.

### **3.2.4 Caracterização da biomassa**

A biomassa algal foi caracterizada quanto ao teor de umidade e cinzas, seguindo os métodos gravimétricos tradicionais (VEGA; VOLTOLINA, 2007). Alíquotas de biomassa em quadruplicata, com massa úmida conhecida, foram secas em estufa à  $70^{\circ}\text{C}$  por 12 h, gerando a massa seca. Alíquotas de massa seca conhecida, em quadruplicata, foram submetidas a queima em mufla a  $500^{\circ}\text{C}$  por 2 h, gerando a massa de cinzas e a massa seca livre de cinzas. Alíquotas da massa seca foram também utilizadas para a determinação do conteúdo em metais (Cu, Fe, Mn, Ni e Zn).

### 3.2.5 Análises de metais

A análise de metais na água coletada no local e na biomassa seca de algas foi realizada por espectroscopia de emissão com plasma acoplado indutivamente (ICP) (método 3120 B, APHA, 2020; método 3050 B, EPA, 1996)

### 3.2.6 Identificação taxonômica

A identificação taxonômica do tapete algal foi realizada através da microscopia óptica, utilizando características morfológicas e literatura especializada (BICUDO; MENEZES, 2006; BOLD, 1985; FERRER; CÁCERES, 2005; GARDUÑO-SOLÓRZANO *et al.*, 2021; BICUDO; PEREIRA, 2003). Adicionalmente, amostras de biomassa viva foram submetidas a extração de DNA para tentativa de identificação molecular. Para tanto, fragmentos de amostra foram selecionados e triturados, com o auxílio de um almofariz e um pistilo em nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino. A extração de DNA foi realizada com o kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Düren, Germany), seguindo o protocolo estabelecido pelo fornecedor. O marcador molecular utilizado foi o *TufA*, que codifica uma molécula que medeia a entrada de um aminoacil-tRNA no sítio receptor do ribossomo durante a síntese de proteínas, ditando o alongamento da cadeia peptídica a ser formada no cloroplasto. O marcador molecular foi amplificado a partir da PCR (termociclador de gradiente Techne TC-3000, Techne Techgene, Burlington, USA). Para um volume final de 25 µL, foram utilizados: 1x PCR buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de cada dNTP, 0,2 µM de cada primer (Forward e Reverse), 5-10 ng de DNA total e 1,25 U de Taq DNA polimerase (Master Mix Gotaq - Promega Corporation, USA). O *TufA* foi amplificado e sequenciado a partir dos pares de *primers* tuFGf4 e o *GtufAR* (VIEIRA *et al.*, 2016). A sequência dos *primers* utilizados está descrita na tabela 3.1. Os produtos amplificados foram purificados com o protocolo de precipitação PEG 20%. As reações de sequenciamento Sanger foram feitas com o kit BigDye™ Terminator v3.1 Sequencing kit (Applied Biosystems, Carlsbad, California USA). Por fim, as amostras foram enviadas a uma empresa terceirizada para realização do processo de obtenção das sequências.

Tabela 3.1 Sequencia dos *primers* utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento do marcador *tufA*.

Gene	Direção	Primer	Sequência	Referência
<i>tufA</i>	Forward	tufGF4	GCNGCNGCNCAAATGGAYGG	Saunders e Kucera (2010)
	Reverse	GtufAR	CCTTCNCGAATMGCRAAWCGC	

### 3.3 RESULTADOS

#### 3.3.1 Características físico-químicas e químicas da água

As variáveis físico-químicas e químicas das amostras de água do local de coleta mostraram típicas características de DAM, com baixo pH, elevadas condutividade e concentrações de Fe (tabela 3.2).

Tabela 3.2. Resultados das análises físico-químicas da amostra de drenagem ácida de mina onde o tapete algal foi encontrado.

Variável	Valor
pH	2,25
Condutividade	2,5 mS.cm <sup>-1</sup>
Temperatura	18°C
Fe	162,760 mg.L <sup>-1</sup>
Mn	30,480 mg.L <sup>-1</sup>
Zn	5,449 mg.L <sup>-1</sup>
Ni	0,903 mg.L <sup>-1</sup>
Cu	0,165 mg.L <sup>-1</sup>

#### 3.3.2 Identificação morfológica e molecular do material algal

A observação das algas filamentosas formadoras do tapete ao microscópio óptico permitiu a indicação do gênero *Mougeotia* C. Agardh, 1824, como amplamente dominante no material, mas não sendo possível a definição ao nível de espécie (figura 3.2). Outros dois gêneros também foram identificados – *Temnogametum* West e G.S.West, 1897 e *Zygonium* Kützinger, 1843, mas sendo mais raros e visualizados apenas no material mantido vivo em laboratório, que passou por processo de sucessão de espécies, uma vez que as condições laboratoriais foram diversas daquelas encontradas no ambiente. Os três gêneros são de algas verdes pertencentes ao Filo Charophyta, Classe Zygnematophyceae, Ordem Zygnematales e Família Zygnemataceae (GUIRY; GUIRY, 2022). As principais características visualizadas no material predominante fixado e congelado obtido no ambiente foram: filamentos unisseriados, simples e formados por células cilíndricas com comprimento médio de 36 µm e largura média de 8,9 µm, presença de cloroplasto laminar ou axial com diversos pirenóides, ausência de zigósporo, que seria importante para uma diferenciação mais precisa de outros gêneros. O gênero *Temnogametum* tem células mais finas e longas, sendo duas a 25 vezes mais longas que o próprio diâmetro e cloroplastos com 8 pirenóides (BICUDO; MENEZES, 2006). Já



*Zygonium* pode ter filamentos ramificados e as células apresentam dois cloroplastos axiais, cada um com um pirenóide central.

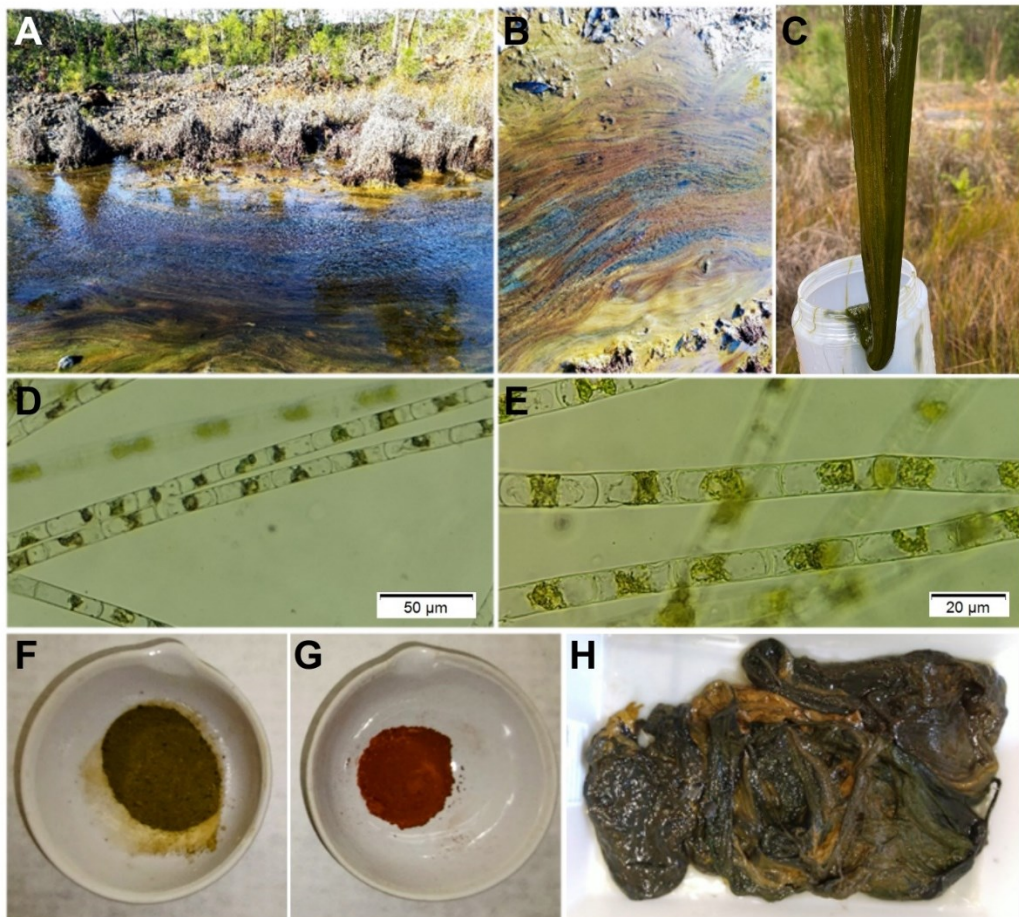


Figura 3.2. Aspecto dos tapetes algais coletados e processados. (A) Local de coleta mostrando o fluxo de DAM e os tapetes algais; (B) detalhe das algas filamentosas no local de coleta; (C) aspecto dos filamentos coletados; (D) fotomicrografia da alga predominante em 200 X; (E) fotomicrografia da alga predominante em 400 X; (F) aspecto da biomassa seca e pulverizada; (G) aspecto das cinzas obtidas após calcinação da biomassa seca; (H) aspecto da biomassa fresca coletada.

A identificação molecular foi realizada com o material vivo, que passou por sucessão, não sendo, portanto, inconclusiva devido a presença de várias espécies. Os resultados indicaram a presença de 6 táxons distintos: *Zygnemopsis* sp., *Zygonium ericetorum*, *Spirogyra majuscula*, *Mougeotia* sp., *Zygonium tunetanum* e *Cylindrocystis* sp. Destes todos pertencem à mesma classe (Zygnematophyceae) e somente *Spirogyra majuscula* difere taxonomicamente dos demais ao nível de ordem (Spirogyrales) e família (Spirogyraceae) (GUIRY; GUIRY,

2022). Os dados de sequenciamento revelaram perfis genéticos distintos para cada táxon, indicando sua singularidade e possibilitando uma caracterização taxonômica preliminar (figura 3.3).

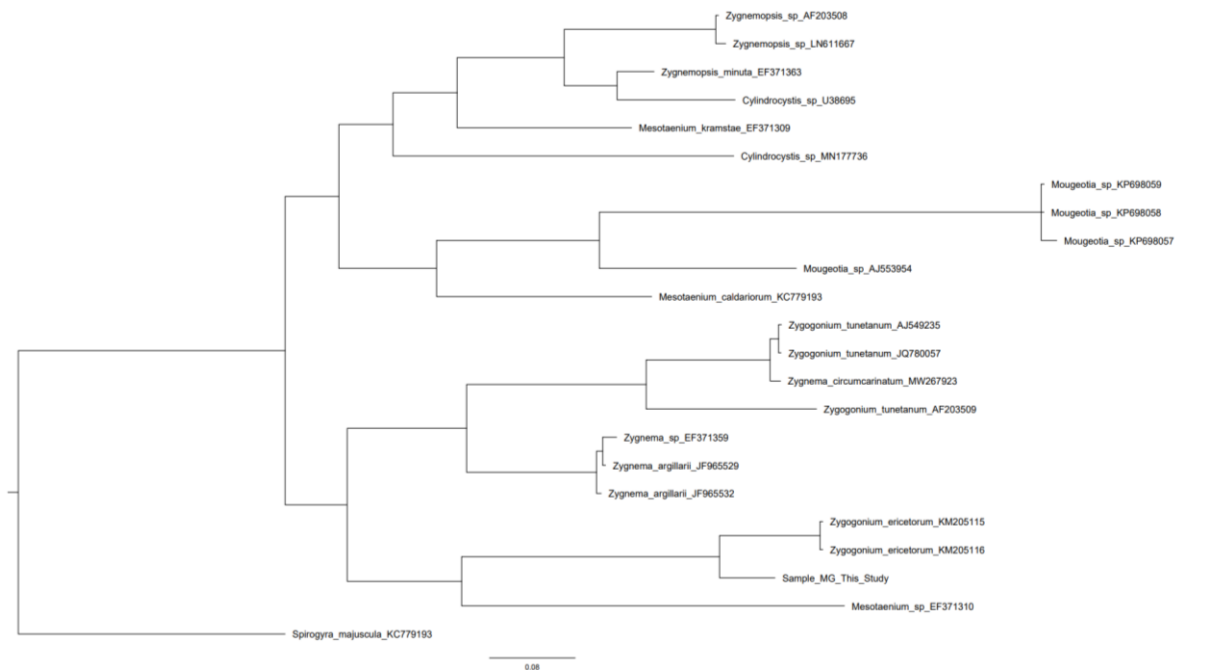


Figura 3.3 Cladograma de identificação taxonômica da amostra de DNA extraída do tapete algal a partir do sequenciamento de Sanger.

### 3.3.3 Caracterização da biomassa algal

A biomassa seca do material algal coletado chamou a atenção por mostrar coloração alaranjada e peso notavelmente maior do que típicas amostras de biomassa algal. O elevado teor de cinzas também chamou a atenção, assim como as altas concentrações de metais, especialmente Fe (tabela 3.3). Comparando-se os valores de metais na biomassa com as concentrações verificadas para a água de entorno dos tapetes algais verificam-se fatores de concentração ( $FC = \text{concentração de metal na biomassa} \div \text{concentração de metal na água}$ ) bastante elevados, atingindo cerca de 606,5 para Fe; 9,2 para Mn; 14,6 para Zn; 31,7 para Ni e 76,4 para Cu. Tais valores indicam a alta capacidade de adsorção/absorção de metais por parte dessa biomassa.

Tabela 3.3. Características da biomassa dos tapetes algais coletados e processados na área de DAM.

Variável	Valor
Teor de umidade na massa fresca (%)	91,8 ± 0,002
Teor de cinzas na massa seca (%)	49,15 ± 0,17
Teor de massa seca livre de cinzas (%)	50,85 ± 0,17
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	98.867,59
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	275,839
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	79,003
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	28,571
Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	12,656

As imagens obtidas por MEV mostram a estrutura filamentosa das algas bem como o aspecto relativamente liso das paredes e o detalhe das conexões entre células, com leve estrangulamento (figura 3.4).

A análise das amostras pela técnica de EDX, que faz uma estimativa da composição elementar do material, indicou também a presença de elementos metálicos, mesmo a biomassa tendo passado por processamento, o qual deve ter removido boa parte dos materiais apenas levemente aderidos ou impregnados na mesma. Os elementos presentes em maior proporção nas amostras analisadas são C (34,48%), K (19,33%), O (17,49%), Fe (12,15%), Al (2,64%), Mg (0,27%) e Ca (0,23%).

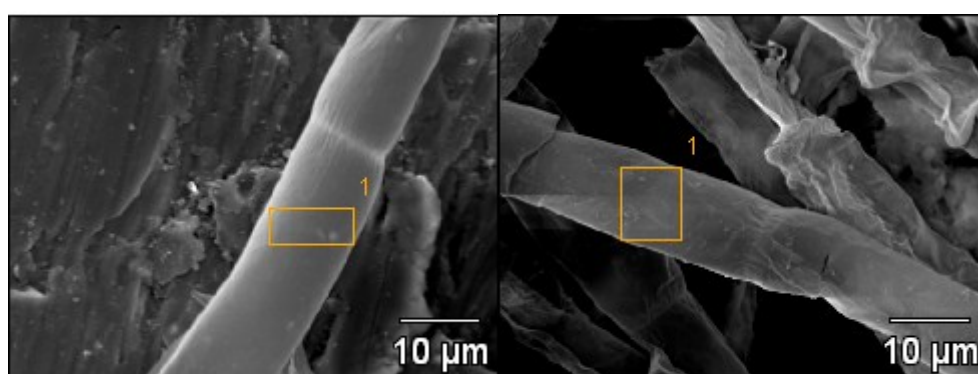


Figura 3.4. Fotomicrografias eletrônicas de varredura (MEV) do material algal coletado na área de DAM e cultivado em laboratório. Os quadros marcados sobre as imagens representam a área selecionada para a análise de EDX.

### 3.4 DISCUSSÃO



### 3.4.1 Características da DAM gerada na área de estudo

A DAM apresenta características físico-químicas semelhantes mesmo em diferentes regiões do mundo. Essas características incluem baixo pH ( $< 4$ ), alta condutividade, baixa turbidez, acidez elevada, baixas concentrações de oxigênio dissolvido e altas concentrações de metais e sulfatos (AKCIL; KOLDAS, 2006). A composição da DAM pode ser influenciada pela matriz geoquímica regional, resultando em variações nos níveis de metais como alumínio, manganês, cobre, chumbo, zinco, cádmio, entre outros. Fatores sazonais, como a pluviosidade, e a distância das áreas de mineração também podem afetar a composição dessas drenagens (GALHARDI; BONOTTO, 2016). No presente estudo, a DAM avaliada apresentou um pH baixo e concentrações elevadas de ferro e manganês. Estudos anteriores realizados na mesma região mostraram semelhanças nessas características (SILVA *et al.*, 2011), embora as concentrações dos metais tenham variado. É importante ressaltar que, em comparação com outras regiões do mundo, as amostras de DAM utilizadas neste estudo exibiram concentrações de metais geralmente menores (tabela 3.4). No entanto, todos os estudos enfatizaram o alto potencial poluidor dessas drenagens. Galhardi e Bonotto (2016) observaram que os valores de pH e metais na DAM gerada em uma região carbonífera no Paraná, sul do Brasil, excediam significativamente os limites estabelecidos pelos padrões legais brasileiros para descarga de efluentes (CONAMA, 2011). Os resultados deste estudo corroboram essas conclusões, revelando valores de pH duas ordens de magnitude superiores e concentrações de ferro, manganês e zinco respectivamente, 10,85; 30 e 1,09 vezes maiores do que os limites permitidos. Esses resultados evidenciam a gravidade do problema e o descaso com as medidas adequadas de remediação e contenção dos danos gerados pelo efluente na região.

Tabela 3.4 Dados de caracterização dos componentes de DAM em diversas partes do mundo e os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Parâmetro	Espanha AYORA <i>et al.</i> (2016)	Chile VITAL <i>et al.</i> (2018)	África do Sul MADZVIRE <i>et al.</i> (2011)	Brasil SILVA <i>et al.</i> (2011)	Brasil GALHARDI <i>et al.</i> (2016)	Limites CONAMA 430 CONAMA (2011)
pH	2,6	-	2,48	3,85	2,94	5-9
Condutividade (mS cm <sup>-1</sup> )	-	-	-	1,69	3,32	-
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	11700	8250	42862	2100	-	1,0 mg L <sup>-1</sup> S*
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	744	13,4	8158,2	1297	1010,4	15 mg L <sup>-1</sup>
Cu (mg L <sup>-1</sup> )	165	615	-	-	-	1,0 mg L <sup>-1</sup>
Ni (mg L <sup>-1</sup> )	-	-	2,97	-	-	2,0 mg L <sup>-1</sup>
Mn (mg L <sup>-1</sup> )	467	203	88,22	30	-	1,0 mg L <sup>-1</sup>
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	976	68,5	8,36	8,7	-	5,0 mg L <sup>-1</sup>

\*o limite na Resolução é para sulfetos.

### 3.4.2 Identificação do tapete algal

O aspecto geral dos tapetes algais que motivaram esse estudo gera a impressão de que se trata de processo de floração, ou seja, quando condições ambientais favoráveis proporcionam o crescimento excessivo de espécies oportunistas, de crescimento rápido, ou r estrategistas. Porém, sabe-se de vários estudos em áreas de DAM que não se trata disso, sendo as espécies em geral de crescimento lento e boas competidoras em situação estressante (K estrategistas) (ANGELES-AGUILERA *et al.*, 2007). A proliferação dessas algas, portanto, se dá através de longos períodos e está mais relacionada a ausência de competidores e de herbívoros, já que as condições extremas de acidez, metais e sulfatos limitam a sobrevivência da maioria das espécies algais e organismos mais complexos como insetos, crustáceos e peixes (NOVIS; HARDING, 2007).

A identificação de algas existentes em ambientes de DAM ou ambientes naturalmente ácidos, sob influência vulcânica, tem sido alvo de estudos em diversas regiões do mundo, destacando-se os trabalhos de López-Archilla *et al.* (2000) no rio Tinto, Espanha; Stevens *et al.* (2001), nos Estados Unidos; Lessmann *et al.*, (2000) em lagos de minas a céu aberto na Alemanha, entre outros. No Brasil, Freitas (2010) estudou 12 ambientes aquáticos impactados por DAM na Bacia Carbonífera de Santa Catarina, onde identificou apenas 5 gêneros, sendo que no Brasil ainda pouco se sabe sobre a ecologia e fisiologia da ficoflora existente nestes locais.

Outro aspecto citado na literatura é a dificuldade de identificação de alguns grupos algais

filamentosos como os aqui estudados, especialmente quando passam por variações extremas nas características ambientais. Isso se deve a processos de poliforfismo em resposta a essas variações, onde uma espécie apresenta morfologias anômalas, podendo dificultar sua identificação e até gerar confusão com outras espécies (NOVIS; HARDING, 2007). No presente estudo, mesmo consultando diversos especialistas em taxonomia de base morfológica e realizando procedimentos moleculares, não foi possível chegar à identificação específica das espécies ocorrentes, nem mesmo da mais abundante. A identificação morfológica de algas verdes da família Zygnemataceae é difícil e muitas vezes necessita a análise de processos de reprodução sexuada, como o aspecto e o processo de geração de zigósporos (BICUDO; MENEZES, 2006). Infelizmente esses processos reprodutivos as vezes são raros e não facilmente indutíveis mesmo em cultivo, especialmente em espécies extremófilas que passam por adaptações bastante particulares. No caso dos procedimentos para identificação molecular o problema reside na dificuldade de processar material de apenas uma espécie, o que torna as análises inconclusivas. Assim, a caracterização mais precisa para o fenômeno aqui reportado, do ponto de vista taxonômico, é que se tratam de tapetes de algas verdes filamentosas formados por diversas espécies de Zygnemataceae, dominadas por uma espécie do gênero *Mougeotia*. Não se descarta inclusive a possibilidade de tratar-se de espécies novas para a Ciência.

### **3.4.3 Retenção de metais na biomassa e seus potenciais para a biorremediação**

Os resultados das análises de metais na biomassa revelam claramente a capacidade das algas coletadas de acumular metais. Notavelmente, a concentração de ferro demonstrou-se significativa, alcançando valores de cerca de 10 % da biomassa, levemente superiores aos encontrados em tapetes algais dominados por *Microspora* sp. em DAM na Índia, relatado por Equeenuddin *et al.* (2021). A análise comparativa dos metais analisados no presente estudo revelou uma ordem de acúmulo na biomassa relacionada com a concentração do metal na DAM (biomassa: Fe > Mn > Zn > Cu > Ni, DAM: Fe > Mn > Zn > Ni > Cu). No caso do Ni e Cu, verificou-se uma preferência leve pelo acúmulo de Cu em relação ao Ni. Esses resultados evidenciam que a composição inorgânica dos biofilmes, resultante da retenção de metais, está diretamente relacionada às suas concentrações no ambiente. Os dados de acumulação de metais neste trabalho são semelhantes aos resultados de acumulação de metais de Freitas *et al.* (2011), que também observou a relação entre a concentração de metais na DAM e a retenção de metais

na biomassa, no entanto relata preferência pelo acúmulo de Ni e Cu em relação ao Mn. Equeenuddin *et al.* (2021) também relatou a que a biomassa de algas efetivamente sequestra e acumula metais, pois observou uma diminuição da concentração desses elementos na DAM em locais após a passagem pelo tapete algal, indicando que esse tapete atua na descontaminação do efluente. O mesmo autor relata ainda uma retenção preferencial para alguns metais, em que amostras de DAM com maiores concentrações de Cu, Zn e Ni apresentam a biomassa com baixas concentrações desses metais, e uma possível interferência do pH nesse processo. Outros estudos mostraram que a biossorção ótima dos metais Cu, Ni, Zn ocorre em pH entre 4 e 5 para a maioria das algas verdes, e o aumento adicional do pH leva à diminuição do potencial de adsorção de metais (TIEN, 2002; BAKATULA *et al.* 2014; MEHTA; GAUR, 2008). Por outro lado, a concentração de Fe nas algas é a mais alta, embora a DAM tenha concentração de Fe menor que outros metais (EQUEENUDDIN *et al.* 2021). Autores sugerem que isso pode ser explicado pois a biossorção de Fe é independente da concentração ambiental ou aumenta com o pH (SCHENCK *et al.* 1988; BAKATULA *et al.* 2014).

A sorção de metais é um processo que envolve a ligação dos metais na superfície celular e aos ligantes intracelulares. É importante ressaltar que a quantidade de metal adsorvido na superfície celular é consideravelmente maior do que o metal presente no interior da célula e as células mortas apresentam maior capacidade de retenção de metais (MEHTA; GAUR, 2008). A ligação de metais na superfície é principalmente influenciada pelo grupo funcional carboxila, que desempenha um papel crucial nesse processo. Vários fatores podem afetar a adsorção de metais, como a concentração do metal e da biomassa na solução, o pH, a temperatura, a presença de cátions e ânions, bem como o estágio metabólico do organismo (MEHTA; GAUR, 2008; SCHENCK *et al.* 1988; BAKATULA *et al.* 2014). Em função do aspecto ferruginoso verificado nos tapetes algais aqui estudados, comprovadamente ricos em Fe, e indicativo da formação de óxidos de Fe, provavelmente o processo de retenção ou adsorção de Fe na biomassa está relacionado, ao menos em parte, com a liberação de oxigênio pela fotossíntese algal. À medida que o oxigênio é eliminado pelas algas encontra Fe dissolvido e reduzido, que é prontamente oxidado gerando óxidos insolúveis que formam incrustações. Na condição estável da drenagem, esse processo pode remover grandes quantidades de Fe e outros metais da água, haja vista a grande biomassa presente no local estudado. A eventual perturbação desses tapetes parece gerar ressuspensão do material retido, o que foi percebido visualmente em campo, no momento das coletas. Ou seja, a remoção de metais não parece ser tanto por absorção, mas sim por leve

adsorção nas paredes celulares, o que sugere procedimentos cuidadosos no caso de padronizar processos de remoção de metais mediados por essas algas. Em resumo, a sorção de metais por algas é um fenômeno complexo influenciado por diversos fatores. A compreensão desses mecanismos é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de remoção eficiente de metais em soluções contaminadas.

### **3.5 CONCLUSÕES**

A Bacia Carbonífera de Santa Catarina, Brasil, é altamente impactada pela DAM, que afeta bacias hidrográficas inteiras limitando até o uso de suas águas mesmo tratadas. Obviamente a biodiversidade local também é altamente impactada pela drenagem, produzindo paisagens por um lado desoladoras, mas por outro lado estratégicas para a prospecção de microrganismos com potenciais biotecnológicos. Entre esses potenciais está a própria remediação desses ambientes. Ou seja, a natureza reage selecionando organismos que acabam por combater o impacto ambiental. Cabe a ciência estar atenta e estudar formas de acelerar os processos para torná-los efetivos em sistemas controlados por engenharia.

O presente estudo demonstrou que mesmo nesse ambiente impactado pela DAM é possível encontrar organismos adaptados a sobreviver e vigorar nessas condições extremas de acidez, metais e sulfatos. O fato de as algas estudadas apresentarem cerca de 10 % de massa seca em ferro, além de impressionante, atesta o potencial das mesmas para processo de remediação.

Ainda que as algas sejam ativas e passíveis de manejo mesmo sem sua identificação específica, sugere-se um esforço no sentido de conhecer sua identidade e mantê-las em bancos de cepas, pois maiores detalhes sobre seu metabolismo e comportamento em relação a variáveis ambientais poderão ser obtidas.

Por fim, é importante relatar que esses ambientes extremos de DAM e sua biodiversidade, apesar de representarem degradação ambiental, também representam fontes para a prospecção de microrganismos biotecnologicamente interessantes. Assim, o processo chamado de restauração ambiental em curso na BCSC, deveria contemplar a preservação de alguns locais estratégicos como fonte para a manutenção dessas espécies, além de promover esforços para o isolamento e manutenção desses microrganismos em laboratório, como coleções vivas para pesquisas aplicadas.

### **4 REFERÊNCIAS**

ABMC, 2008. Disponível em: <<http://www.carvaomineral.com.br>>. Acesso em: 08 abr. 2022.

AGBOOLA, O.D.; BENSON, N.U. Physisorption and chemisorption mechanisms influencing micro (nano) plastics-organic chemical contaminants interactions: a review. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, p. 167, 2021.

AGUILERA, Á. *et al.* Physiological plasticity of high-temperature intertidal cyanobacterial microbial mats to temperature and salinity: Daily and seasonal in situ photosynthetic performance. **European journal of phycology**, v. 55, n. 2, p. 223-233, 2020.

AHN, Y. *et al.* Biodiesel production potential of microalgae, cultivated in acid mine drainage and livestock wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 314, p. 115031, 2022.

AKCIL, A.; KOLDAS, S. Acid Mine Drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of cleaner production**, v. 14, n. 12-13, p. 1139-1145, 2006.

ALCOLEA, A. *et al.* Heavy metal removal of intermittent acid mine drainage with an open limestone channel. **Minerals Engineering**, v. 26, p. 86-98, 2012.

ALEXANDRE, N.Z. Diagnóstico ambiental da região carbonífera de Santa Catarina: Degradação dos recursos naturais. **Revista Tecnologia e Ambiente**, v. 5(2), p. 35–50, 1999.

ALEXANDRE, N.Z.; KREBS, A.S.J. **Qualidade das águas superficiais do município de Criciúma - SC**. Porto Alegre, v. 5, p. 107, 1995.

ALKHUDHIRI, A.; DARWISH, N.; HILAL, N. Membrane distillation: A comprehensive review. **Desalination**, v. 287, p. 2-18, 2012.

AMARAL, L.A. *et al.* Eukaryotic diversity in Spain's River of Fire. **Nature**, v. 417, n. 6885, p. 137-137, 2002.

ANJANEYULU, Y.; SREEDHARA CHARY, N.; SAMUEL SUMAN RAJ, D. Decolourization of industrial effluents—available methods and emerging technologies—a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 4, p. 245-273, 2005.

ANDERSON, D.M.; GLIBERT, P.M.; BURKHOLDER, J.M. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. **Estuaries**, v. 25, p. 704-726, 2002.

APHA, **Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater**. 3120 metals by plasma emission spectroscopy. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press, 2020.

AUBE, B.C.; PAYANT, S. The Geco process: a new high density sludge treatment for acid mine drainage. **Proceedings of the Fourth International Conference on Acid Rock Drainage**. 1997. p. 165-80.

AYORA, C. *et al.* Recovery of rare earth elements and yttrium from passive-remediation systems of acid mine drainage. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 15, p. 8255-8262, 2016.

AZAPAGIC, A. Developing a framework for sustainable development indicators for the mining and minerals industry. **Journal of cleaner production**, v. 12, n. 6, p. 639-662, 2004.

BAKATULA, E.N. *et al.* Biosorption of trace elements from aqueous systems in gold mining sites by the filamentous green algae (*Oedogonium* sp.). **Journal of Geochemical Exploration**, v. 144, p. 492-503, 2014.

BAKER, B.J.; BANFIELD, J.F. Microbial communities in acid mine drainage. **FEMS microbiology ecology**, v. 44, n. 2, p. 139-152, 2003.

BETZ, M.R. *et al.* Coal mining, economic development, and the natural resources curse. **Energy Economics**, v. 50, p. 105-116, 2015.

BICKI, T.J., *et al.* Impact of on-site sewage disposal systems on surface and ground water quality. **University of Florida, Soil Science Department: Florida Department of Health and Rehabilitative Ser.**, 1984.

BICUDO, C.E.; PEREIRA, F.C. **Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 16: Chlorophyceae (Ulotrichales)**, 2003.

BICUDO, C.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**, São Carlos, Rima, 2006.

BLACK, C.; ZIEMKIEWICZ, P.; SKOUSEN, J. Construction of a limestone leach bed and preliminary water quality results in Beaver Creek. In: **Proceedings, Twentieth West Virginia Surface Mine Drainage Task Force Symposium, Morgantown, WV**. 1999.

BOLD, H.C. **Introduction to the Algae. Structure and reproduction**, v. 720, 1985.

BOONSTRA, J. V. L. R. *et al.* Biological treatment of acid mine drainage. **Process Metallurgy. Elsevier**, 1999. p. 559-567.

BRAY, J.P. **The ecology of algal assemblages across a gradient of acid mine drainage stress on the West Coast, South Island, New Zealand**. Dissertação (Master in Science), Universidade de Canterbury, Nova Zelândia, Christchurch, p. 106. 2007.

BREZONIK, P.L. **Nitrogen: sources and transformations in natural waters**. 1972.

CHAI, W. S.; TAN, W. G., MUNAWAROH; H. S. H., GUPTA, V. K.; HO, S. H.; SHOW, P. L. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: a review. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 116236, 2021.

CHALIVENDRA, S. **Bioremediation of wastewater using microalgae**. University of Dayton, 2014.

CHEN, L. *et al.* Microbial communities, processes and functions in acid mine drainage ecosystems. **Current opinion in biotechnology**, v. 38, p. 150-158, 2016.

CHEN, X. *et al.* Toxicity of Co nanoparticles on three species of marine microalgae. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 454-461, 2018.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CHOI, H.J; LEE, S. Heavy metal removal from acid mine drainage by calcined eggshell and microalgae hybrid system. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 13404-13411, 2015.

CHRTEK, S.; POPP, W.g. UV disinfection of secondary effluents from sewage treatment plants. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 2, p. 343-346, 1991.

CLAPCOTT, J.E.; GOODWIN, E.O.; HARDING, J.S. Identifying catchment-scale predictors of coal mining impacts on New Zealand stream communities. **Environmental management**, v. 57, p. 711-721, 2016.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (2005). **Resolução 357 publicada em 17 de março de 2005.** Disponível em: [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res\\_conama\\_357\\_2005\\_classificacao\\_corpos\\_agua\\_rtfeda\\_altrd\\_res\\_393\\_2007\\_397\\_2008\\_410\\_2009\\_430\\_2011.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfeda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf). Acessado em: 15 outubro 2022

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (2011). **Resolução 430 publicada em 13 de maio de 2011.** Disponível em: [https://www.sua.pe.gov.br/images/publicacoes/CONAMA\\_n.430.2011.pdf](https://www.sua.pe.gov.br/images/publicacoes/CONAMA_n.430.2011.pdf). Acessado em: 15 outubro 2022

COULTON, R. *et al.* Wheal Jane mine water active treatment plant-design, construction and operation. **Land Contamination and Reclamation**, v. 11, n. 2, p. 245-252, 2003.

CRAVOTTA III, C.A. Laboratory and field evaluation of a flushable oxalic limestone drain for treatment of net-acidic drainage from a flooded anthracite mine, Pennsylvania, USA. **Applied Geochemistry**, v. 23, n. 12, p. 3404-3422, 2008.

CRAVOTTA III, C.A. Size and performance of anoxic limestone drains to neutralize acidic mine drainage. **J Environ Qual**, v. 32, n. 4, p. 1277-1289, 2003.

CRINI, G.; BADOT, P. **Sorption processes and pollution: conventional and non-conventional sorbents for pollutant removal from wastewaters.** Presses Univ. Franche-Comté, 2010.

CRINI, G.; MONTIEL, A.J.; BADOT, P. **Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: Procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique.** Presses Univ. Franche-Comté, 2007.



DA COSTA, J. P. *et al.* Green synthesis of covellite nanocrystals using biologically generated sulfide: potential for bioremediation systems. **Journal of environmental management**, v. 128, p. 226-232, 2013.

DA COSTA, J.P. *et al.* Synthesis of nanocrystalline ZnS using biologically generated sulfide. **Hydrometallurgy**, v. 117, p. 57-63, 2012.

DAS, A.; ADHIKARI, S.; KUNDU, P. Bioremediation of wastewater using microalgae. **Environmental Biotechnology for Soil and Wastewater Implications on Ecosystems**, p. 55-60, 2019.

DAS, B.K. *et al.* Occurrence and role of algae and fungi in acid mine drainage environment with special reference to metals and sulfate immobilization. **water research**, v. 43, n. 4, p. 883-894, 2009.

DAUBERT, L.N.; BRENNAN, R.A. Passive remediation of acid mine drainage using crab shell chitin. **Environmental Engineering Science**, v. 24, n. 10, p. 1475-1480, 2007.

DEAN, A.P.; *et al.* Metabolic adaptation of a *Chlamydomonas acidophila* strain isolated from acid mine drainage ponds with low eukaryotic diversity. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 75-87, 2019.

DEGENS, B. **Proposed Guidelines for Treating Acidic Drain Water in the Avon Catchment, Western Australia: Adapting Acid Mine Drainage Treatment Systems for Saline Acidic Drains**. Department of Water, 2009.

DEMERS, I. *et al.* Use of acid mine drainage treatment sludge by combination with a natural soil as an oxygen barrier cover for mine waste reclamation: Laboratory column tests and intermediate scale field tests. **Minerals engineering**, v. 107, p. 43-52, 2017.

DENG, D.; WEIDHAAS, J.L.; LIN, L. Kinetics and microbial ecology of batch sulfidogenic bioreactors for co-treatment of municipal wastewater and acid mine drainage. **Journal of Hazardous materials**, v. 305, p. 200-208, 2016.

DENICOLA, D.M.; STAPLETON, M.G. Benthic diatoms as indicators of long-term changes in a watershed receiving passive treatment for acid mine drainage. **Hydrobiologia**, v. 732, p. 29-48, 2014.

DIZ, H.R. **Chemical and biological treatment of acid mine drainage for the removal of heavy metals and acidity**. Tese de Doutorado. Virginia Polytechnic Institute and State University. 1997.

DO AMARAL FILHO, J.R. *et al.* The use of static and humidity cell tests to assess the effectiveness of coal waste desulfurization on acid rock drainage risk. **Mine Water and the Environment**, v. 36(3), p. 429-435, 2017.

DRUSCHEL, G.K. *et al.* Acid mine drainage biogeochemistry at Iron Mountain, California. **Geochemical Transactions**, v. 5, n. 2, p. 1-20, 2004.

EDZWALD, J.K.; TOBIASON, J.E. Enhanced coagulation: US requirements and a broader view. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 63-70, 1999.

EGER, P.; WAGNER, J. The use of wetlands to remove nickel from mine drainage—is perpetual treatment really possible. In: **Proc. 19 th Annual Meeting ASMR, Lexington, KY**. 2002.

EHRlich, H. L. How microbes influence mineral growth and dissolution. **Chemical geology**, v. 132, n. 1-4, p. 5-9, 1996.

ELSADANY, A. The Use of Microalgae in Bioremediation of the Textile Wastewater Effluent. **Nature and Science**, v. 16, 2018.

EMPARAN, Q. *et al.* Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters: a review. **Appl. Ecol. Environ. Res**, v. 17, n. 1, p. 889-915, 2019.

EQUEENUDDIN, S.M.; BISOI, K.C.; BARIK, C.K. Natural attenuation of metals by algal mat from acid mine drainage at Malanjhand copper mine. **Arabian Journal of Geosciences**, v. 14, p. 1-6, 2021.

EVANGELOU, V.P. Pyrite chemistry: the key for abatement of acid mine drainage. **Acidic mining lakes: acid mine drainage, limnology and reclamation**, p. 197-222, 1998.

FALAYI, T.; NTULI, F. Removal of heavy metals and neutralisation of acid mine drainage with un-activated attapulgite. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1285-1292, 2014.

FENT, K.L; WESTON, A.A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic toxicology**, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006.

FERRER, N.C.; CÁCERES, E.J. *Mougeotia mesocarpiana* (Zygnematophyceae, Chlorophyta), a new freshwater species of the Mesocarpus Section from Argentina. **Iheringia, Série Botânica.**, v. 60, n. 1, p. 63-68, 2005.

FREITAS, A.P.P.; SCHNEIDER, I. A. H.; SCHWARZBOLD, A. Algae in acidic mine drainage on Santa Catarina coalfield, Brazil. **Mine water and innovative thinking. International Mine Water Association Symposium**, Sidney, Nova Scotia, Canada. 2010.

FREITAS, A.P.P; SCHNEIDER, I.A.H.; SCHWARTZBOLD, A. Biosorption of heavy metals by algal communities in water streams affected by the acid mine drainage in the coal-mining region of Santa Catarina state, Brazil. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 11, p. 1215-1218, 2011.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal of environmental management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, 2011.

GAIKWAD, R.W.;SAPKAL, R.S.; SAPKAL, V.S. Removal of copper ions from acid mine drainage wastewater using ion exchange technique: factorial design analysis. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 2010, 2010.

GALHARDI, J.A.; BONOTTO, D.M. Hydrogeochemical features of surface water and groundwater contaminated with acid mine drainage (AMD) in coal mining areas: a case study in southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 18911-18927, 2016.

GARDUÑO-SOLÓRZANO, G. *et al.* The phylogenetic placement of *Temnogametum* (Zygnemataceae) and description of *Temnogametum iztacalense* sp. nov., from a tropical high mountain lake in Mexico. **European Journal of Phycology**, v. 56, n. 2, p. 159-173, 2021.

GIBERT, O. *et al.* In-situ remediation of acid mine drainage using a permeable reactive barrier in Aznalcóllar (Sw Spain). **Journal of hazardous materials**, v. 191, n. 1-3, p. 287-295, 2011.

GIMENEZ , A. R. **Estudo do potencial das conchas de moluscos para o tratamento da drenagem ácida de mineração de carvão**. 2017. 143 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

GOLTSMAN, D.S.A. *et al.* New group in the *Leptospirillum* clade: cultivation-independent community genomics, proteomics, and transcriptomics of the new species “*Leptospirillum* group IV UBA BS”. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 17, p. 5384-5393, 2013.

GOMES, C.J.B.; MENDES, C.A.B.; COSTA, J.F.C.L. The environmental impact of coal mining: a case study in Brazil’s Sangão watershed. **Mine Water and the Environment**, v. 30, n. 3, p. 159-168, 2011.

GONÇALVES, A. L. The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: a review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. **Applied Sciences**, v. 11, n. 2, p. 871, 2021.

GOTHE, C.A.V. **Avaliação dos impactos ambientais da indústria carbonífera nos recursos hídricos da região sul catarinense**. Universidade Federal de Santa Catarina, Dissertação de Mestrado, 1993.

GRANDE, J.A.; *et al.* Acid mine drainage and acid rock drainage processes in the environment of Herrerías Mine (Iberian Pyrite Belt, Huelva-Spain) and impact on the Andevalo Dam. **Environmental Geology**, v. 47, p. 185-196, 2005.

GRANDE, J.A. *et al.* Relationships between conductivity and pH in channels exposed to acid mine drainage processes: study of a large mass of data using classical statistics. **Water resources management**, v. 24, p. 4579-4587, 2010.

GRAY, N.F. Environmental impact and remediation of acid mine drainage: a management problem. **Environmental geology**, v. 30, p. 62-71, 1997.

GRAY, N.F.; DELANEY, E. Comparison of benthic macroinvertebrate indices for the assessment of the impact of acid mine drainage on an Irish river below an abandoned Cu–S mine. **Environmental Pollution**, v. 155, n. 1, p. 31-40, 2008.

GULDHE, A. *et al.* Biodiesel synthesis from wastewater grown microalgal feedstock using enzymatic conversion: A greener approach. **Fuel**, v. 237, p. 1112-1118, 2019.

GUIRY M.D.; GUIRY G.M. **AlgaeBase**. National University of Ireland; Galway: 2022.

HALLBERG, K.B. *et al.* Macroscopic streamer growths in acidic, metal-rich mine waters in North Wales consist of novel and remarkably simple bacterial communities. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 3, p. 2022-2030, 2006.

HARDING, J. S.; BOOTHROYD, I. Impacts of mining. **JS Harding, P. Mosley, C.**, p 36.1–36.10. 2004.

HEDIN, R., WEAVER, T., WOLFE, N., WATZLAF, G., Effective passive treatment of coal mine drainage. **Proceedings, 35th National Association of Abandoned Mine Land Programs Conference**, 2013. Disponível em: <https://www.hedinenvironment.com/pdf/NAMLPEffectivePassiveTreatmentPaper.pdf>. Acesso em: 15 de out de 2023.

HEDIN, R.S. *et al.* Passive treatment of acidic coal mine drainage: The Anna S mine passive treatment complex. **Mine Water and the Environment**, v. 29, n. 3, p. 165-175, 2010.

HEDIN, R.S. Iron removal by a passive system treating alkaline coal mine drainage. **Mine Water and the Environment**, v. 27, n. 4, p. 200-209, 2008.

HEDRICH, S.; JOHNSON, D.B. *Acidithiobacillus ferridurans sp. nov.*, an acidophilic iron-, sulfur- and hydrogen-metabolizing chemolithotrophic gammaproteobacterium. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 63, n. Pt\_11, p. 4018-4025, 2013.

HEDRICH, S; JOHNSON, D.B. Remediation and selective recovery of metals from acidic mine waters using novel modular bioreactors. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 20, p. 12206-12212, 2014.

HENZE, M.; HARREMOES, P. Anaerobic Treatment of Wastewater: A Literature Review. **Water Science and Technology**, v. 15, p. 1-101, 1983.

HUGHES, T.A.; GRAY, N.F. Co-treatment of acid mine drainage with municipal wastewater: performance evaluation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 7863-7877, 2013a.

HUGHES, T.A.; GRAY, N.F. Removal of metals and acidity from acid mine drainage using municipal wastewater and activated sludge. **Mine Water Environ.**, v. 32, p. 170-184, 2013b.

HURTADO, C.; VIEDMA, P.; COTORAS, D. Design of a bioprocess for metal and sulfate removal from acid mine drainage. **Hydrometallurgy**, v. 180, p. 72-77, 2018.

JAMIL, I. N.; CLARKE, W.P. Bioremediation for acid mine drainage: organic solid waste as carbon sources for sulfate-reducing bacteria: a review. **Journal of Mechanical Engineering and Sciences**, v. 5, p. 569-581, 2013.

JJEMBA, P.K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 63, n. 1, p. 113-130, 2006.

JOHNSON, D.B.; HALLBERG, K.B. Acid mine drainage remediation options: a review. **Science of the total environment**, v. 338, n. 1-2, p. 3-14, 2005.

JOHNSON, K.L.; YOUNGER, P.L. The co-treatment of sewage and mine waters in aerobic wetlands. **Engineering Geology**, v. 85, n. 1-2, p. 53-61, 2006.

JORDÃO E.P.; PESSOA C.A. Tratamento de Esgotos Domésticos. Rio de Janeiro: **ABES**, 1995.

KARPF, C.; KREBS, P. Quantification of groundwater infiltration and surface water inflows in urban sewer networks based on a multiple model approach. **Water research**, v. 45, n. 10, p. 3129-3136, 2011.

KAPLAN, D. Water pollution and bioremediation by microalgae: Absorption and adsorption of heavy metals by microalgae. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**, p. 439-447, 2003.

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.

KIM, M.H. *et al.* Kinetics of removing nitrogenous and phosphorus compounds from swine waste by growth of microalga, *Spirulina platensis*. **J. Microbiol. Biotechnol**, v. 10(4): p. 455-461, 2000.

KONTOPOULOS A., *et al.* Acid mine drainage control. In: **Effluent Treatment in the Mining Industry**. University of Concepción, 1998.

KOPPEL, D.J. *et al.* Chronic toxicity of an environmentally relevant and equitoxic ratio of five metals to two Antarctic marine microalgae shows complex mixture interactivity. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 1319-1330, 2018.

KOPPEL, D.J. *et al.* Preliminary study of cellular metal accumulation in two Antarctic marine microalgae—implications for mixture interactivity and dietary risk. **Environmental pollution**, v. 252, p. 1582-1592, 2019.

KRUSE, N.A. *et al.* In stream dynamics of acid mine drainage and untreated sewage. **Environmental Earth Sciences**, v. 78, p. 1-12, 2019.

KUMAR, K.S. *et al.* Microalgae—a promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 113, p. 329-352, 2015.

LAKSHMANA, P.S.; SURIYAPRAKASH, T.N. K.; ASHOK KUMAR, J. Wastewater Treatment Technologies: A Review. **Pharma Times**, v. 43, n. 5, p. 55-62, 2011.

LAPOINTE, B.E.; O'CONNELL, J. D.; GARRETT, G. S. Nutrient couplings between on-site sewage disposal systems, groundwaters, and nearshore surface waters of the Florida Keys. **Biogeochemistry**, v. 10, n. 3, p. 289-307, 1990.

LATTUADA, R.M. *et al.* Determination of metals by total reflection X-ray fluorescence and evaluation of toxicity of a river impacted by coal mining in the south of Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 2-3, p. 531-537, 2009.

LEBRERO, R. *et al.* Odor assessment and management in wastewater treatment plants: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 915-950, 2011.

LEFTICARIU, L. *et al.* Sulfate reducing bioreactor dependence on organic substrates for remediation of coal-generated acid mine drainage: Field experiments. **Applied Geochemistry**, v. 63, p. 70-82, 2015.

LETTINGA, G.; HULSHOFF POL, L. New Technologies for Anaerobic Wastewater Treatment. **Water Science and Technology**, v. 18, p. 41-53, 1986.

LI, M. *et al.* Synergistic removal of cadmium and organic matter by a microalgae-endophyte symbiotic system (MESS): An approach to improve the application potential of plant-derived biosorbents. **Environmental Pollution**, v. 261, p. 114-177, 2020.

LI, M.G.; AUBÉ, B.; ST-ARNAUD, L. Considerations in the use of shallow water covers for decommissioning reactive tailings. **Proceedings of the Fourth International Conference on Acid Rock Drainage**. p. 115-130. 1997.

LIU, B. *et al.* Evaluation of dynamic binding performance of C-phycoerythrin and allophycocyanin in *Spirulina platensis* algae by aminated polyacrylonitrile nanofiber membrane. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, p. 107686, 2020.

LOOS, M. A. *et al.* Evaluation of sodium lauryl sulfate, sodium benzoate and sorbic acid as inhibitors of acidification of South African coal waste. **Groundwater and Mining: Proceedings of the 5th Biennial Symposium of the Groundwater Division of the Geological Survey of South Africa Randberg, Transvaal. Pretoria** Geological Society of South Africa. 1989. p. 193-200.

LÓPEZ-ARCHILLA, A.I.; MARÍN, I.; AMILS, R. Microbial community composition and ecology of an acidic aquatic environment: the Tinto River, Spain. **Microbial ecology**, v. 41, p. 20-35, 2001.

LOTTERMOSER, B. **Mine wastes**. 2 ed. School of Earth and Environmental Sciences James Cook University: Springer-Verlag Berlin, 2007, 312 p. J

LUÍS, A. T. *et al.* Photosynthetic activity and ecology of benthic diatom communities from streams affected by acid mine drainage (AMD) in pyritic mines. **Fundamental and Applied Limnology**, v. 182, n. 1, p. 47-59, 2013.

LUÍS, A.T *et al.* Integrating geochemical (surface waters, stream sediments) and biological (diatoms) approaches to assess AMD environmental impact in a pyritic mining area: Aljustrel (Alentejo, Portugal). **Journal of environmental sciences**, v. 42, p. 215-226, 2016.

LUÍS, A.T. *et al.* Impact of acid mine drainage (AMD) on water quality, stream sediments and periphytic diatom communities in the surrounding streams of Aljustrel mining area (Portugal). **Water, air, and soil pollution**, v. 200, p. 147-167, 2009.

LYEW, D.; SHEPPARD, J. Use of conductivity to monitor the treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria. **Water Research**, v. 35, n. 8, p. 2081-2086, 2001.

MADZIVIRE, G. *et al.* Fate of sulphate removed during the treatment of circumneutral mine water and acid mine drainage with coal fly ash: Modelling and experimental approach. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 13, p. 1467-1477, 2011.

MAGRI, M.E. *et al.* Constructed wetlands for sludge dewatering with high solids loading rate and effluent recirculation: Characteristics of effluent produced and accumulated sludge. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 316-323, 2016.

MAREE, J.P.; DU PLESSIS, P. Neutralization of acid mine water with calcium carbonate. **Water Science and Technology**, v. 29, n. 9, p. 285-296, 1994.

MASSOCATO, T.F. *et al.* Tolerance of *Ulothrix* sp. LAFIC 010 (Chlorophyta) against high concentration of metals from acid mine drainage. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 157, p. 227-234, 2018.

MASINDI, V.; FOTEINIS, S.; CHATZISYMEON, E. Co-treatment of acid mine drainage and municipal wastewater effluents: Emphasis on the fate and partitioning of chemical contaminants. *Journal of hazardous materials*, v. 421, p. 126677, 2022.

MASUKUME, M.; ONYANGO, M.S.; MAREE, J.P. Sea shell derived adsorbent and its potential for treating acid mine drainage. **International Journal of Mineral Processing**, v. 133, p. 52-59, 2014.

MCCULLOUGH, C.D.; LUND, M.A.; MAY, J.M. Field-scale demonstration of the potential for sewage to remediate acidic mine waters. **Mine Water and the Environment**, v. 27, n. 1, p. 31-39, 2008.

MCCULLOUGH, C.D.; LUND, M.A.; MAY, J.M. Field-scale demonstration of the potential for sewage to remediate acidic mine waters. **Mine Water and the Environment**, v. 27, p. 31-39, 2008.

MCGHEE, T.J. **Water Supply and Sewerage**. New York: McGraw-Hill, 1991. Páginas 260-287.

MEHLING, P.E.; DAY, S.J.; SEXSMITH, K.S. Blending and layering waste rock to delay, mitigate or prevent acid generation: a case review study. **Proceedings of the Fourth International Conference on Acid Rock Drainage**. 1997. p. 953-970.

MEHTA, S.K.; GAUR, J.P. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. **Critical reviews in biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 113-152, 2005.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and resource recovery**. McGraw Hill Education, 5<sup>o</sup> edição, 2014.

MOHAN, D.; CHANDER, S. Removal and recovery of metal ions from acid mine drainage using lignite—a low cost sorbent. **Journal of hazardous materials**, v. 137, n. 3, p. 1545-1553, 2006.

MOSES, C.O. *et al.* Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and by ferric iron. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 51, n. 6, p. 1561-1571, 1987.

MOTSI, T.; ROWSON, N.A.; SIMMONS, M.J.H. Adsorption of heavy metals from acid mine drainage by natural zeolite. **International journal of mineral processing**, v. 92, n. 1-2, p. 42-48, 2009.

MUHAMMAD, S.N. *et al.* Passive treatment of acid mine drainage using mixed substrates: batch experiments. **Procedia Environmental Sciences**, v. 30, p. 157-161, 2015.

MULOPO, J. Continuous pilot scale assessment of the alkaline barium calcium desalination process for acid mine drainage treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, n. 2, p. 1295-1302, 2015.

NAIDU, G. *et al.* A critical review on remediation, reuse, and resource recovery from acid mine drainage. **Environmental pollution**, v. 247, p. 1110-1124, 2019.

NARAYANAN, R.; DUTTA, S.; SESHADRI, S.K. Hydroxy apatite coatings on Ti-6Al-4V from seashell. **Surface and Coatings Technology**, v. 200, n. 16-17, p. 4720-4730, 2006.

NAVARRO-LÓPEZ, E. *et al.* Biostimulant potential of *Scenedesmus obliquus* grown in brewery wastewater. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 664, 2020.



NECULITA, C.M.; ZAGURY, G.J.; BUSSIÈRE, B. Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria: Critical review and research needs. **Journal of environmental quality**, v. 36, n. 1, p. 1-16, 2007.

NGUEGANG, B. *et al.* The treatment of acid mine drainage using vertically flowing wetland: Insights into the fate of chemical species. **Minerals**, v. 11, n. 5, p. 477, 2021.

NGUYEN, T.T.; SODA, S.; HORIUCHI, K. Removal of Heavy Metals from Acid Mine Drainage with Lab-Scale Constructed Wetlands Filled with Oyster Shells. **Water**, v. 14, n. 20, p. 3325, 2022.

NIYOGI, D.K.; LEWIS, J.R.; WILLIAM M.; MCKNIGHT, D. M. Effects of stress from mine drainage on diversity, biomass, and function of primary producers in mountain streams. **Ecosystems**, v. 5, n. 6, p. 554-567, 2002.

NIYOGI, D.K.; MCKNIGHT, D.M.; LEWIS J.R.W.M. Influences of water and substrate quality for periphyton in a montane stream affected by acid mine drainage. **Limnology and Oceanography**, v. 44, n. 3 part 2, p. 804-809, 1999.

NOGUEIRA, E.W. *et al.* Sulfate and metal removal from acid mine drainage using sugarcane vinasse as electron donor: Performance and microbial community of the down-flow structured-bed bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 330, p. 124968, 2021.

NORDSTROM, D. K.; JENNE, E. A.; BALL, J. W. Redox equilibria of iron in acid mine waters, 1979.

NOVIS, P.M. Taxonomy of Klebsormidium (Klebsormidiales, Charophyceae) in New Zealand streams and the significance of low-pH habitats. **Phycologia**, v. 45, n. 3, p. 293-301, 2006.

NOVIS, P.M.; HARDING, J.S. Extreme acidophiles: freshwater algae associated with acid mine drainage. **Algae and cyanobacteria in extreme environments**, p. 443-463, 2007.

NUNEZ-GOMEZ, D. *et al.* Adsorption of heavy metals from coal acid mine drainage by shrimp shell waste: Isotherm and continuous-flow studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 1, p. 102787, 2019.

OLDS, W.E. *et al.* Nickel and zinc removal from acid mine drainage: roles of sludge surface area and neutralising agents. **Journal of Mining**, v. 2013, 2013.

PEPPAS, A.; KOMNITSAS, K.; HALIKIA, I. Use of organic covers for acid mine drainage control. **Minerals Engineering**, v. 13, n. 5, p. 563-574, 2000.

PEPPER, I.L. *et al.* (Ed.). Environmental microbiology. Academic press, 2011.

PEREIRA, S. *et al.* Using extracellular polymeric substances (EPS)-producing cyanobacteria for the bioremediation of heavy metals: do cations compete for the EPS functional groups and also accumulate inside the cell?. **Microbiology**, v. 157, n. 2, p. 451-458, 2011.

PEREIRA, T.C.B *et al.* Acid mine drainage (AMD) treatment by neutralization: Evaluation of physical-chemical performance and ecotoxicological effects on zebrafish (*Danio rerio*) development. **Chemosphere**, v. 253, p. 126665, 2020.

PETERSON, H.G.; HEALEY, F.; WAGEMANN, R. Metal toxicity to algae: a highly pH dependent phenomenon. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 41, n. 6, p. 974-979, 1984.

PHILIPPI, Vivian Prá *et al.* **Microalgas de drenagem ácida de mina de carvão de Santa Catarina-Brasil: levantamento florístico e parâmetros ecofisiológicos de uma cepa isolada de Chlamydomonas sp.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

RAMBABU, K. *et al.* Biological remediation of acid mine drainage: Review of past trends and current outlook. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 2, p. 100024, 2020.

RATHOD, H. Algae based wastewater treatment. **A Seminar Report of Master of Technology in Civil Engineering**. Roorkee, Uttarakhand, India. 2014.

RAWAT, I. *et al.* Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, n.10, p. 3411–3424, 2011.

RICCI, B.C. *et al.* Integration of nanofiltration and reverse osmosis for metal separation and sulfuric acid recovery from gold mining effluent. **Separation and purification technology**, v. 154, p. 11-21, 2015.

RIMSTIDT, J.D.; CHERMAK, J.A.; GAGEN, P.M. Rates of Reaction of Galena, Spalerite, Chalcopyrite, and Asenopyrite with Fe(III) in Acidic Solutions. In Environmental Geochemistry of Sulfide Oxidation; Alpers, C.N., Blowes, D.W., Eds.; **American Chemical Society: Washington, DC, USA**, 1994; Volume 550, pp. 2–13.

RIMSTIDT, J.D.; VAUGHAN, D.J. Pyrite oxidation: A state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 67, p. 873–880, 2003.

ROSE, A. W.; CRAVOTTA III, C. A. Geochemistry of coal mine drainage. **Coal mine drainage prediction and pollution prevention in Pennsylvania**, v. 1, p. 1-22, 1998.

ROSE, A.W.; LOURENSO, F.J. Evaluation of two open limestone channels for treating acid mine drainage. **National Meeting of the American Society for Surface Mining and Reclamation**, Florida. 2000.

ROSEN, M.; WELANDER, T.; LOFQVIST, A. Development of a New Process for Treatment of a Pharmaceutical Wastewater. **Water Science and Technology**, v. 37, p. 251-258, 1998.

ROWLEY, M.V. *et al.* The biosulfide process: integrated biological/chemical acid mine drainage treatment-results of laboratory piloting. **International Land Reclamation and Mine Drainage conference and the Third international conference on the Abatement of Acidic Drainage**, Pittsburgh, PA. 1994. p. 24-29.

RUGGIU, D. *et al.* Paleocological evidence for diatom response to metal pollution in Lake Orta (N. Italy). **Journal of Paleolimnology**, v. 20, p. 333-345, 1998.

RUIHUA, L. *et al.* Phosphorus removal performance of acid mine drainage from wastewater. **Journal of hazardous materials**, v. 190, n. 1-3, p. 669-676, 2011.

SALAM, K.A. Towards sustainable development of microalgal biosorption for treating effluents containing heavy metals. **Biofuel Research Journal**, v. 6, n. 2, p. 948, 2019.

SAMAD, M.A.; YANFUL, E.K. A design approach for selecting the optimum water cover depth for subaqueous disposal of sulfide mine tailings. **Canadian Geotechnical Journal**, v. 42, n. 1, p. 207-228, 2005.

SÁNCHEZ-ZURANO, A. *et al.* Wastewater treatment using *Scenedesmus almeriensis*: effect of operational conditions on the composition of the microalgae-bacteria consortia. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, p. 3885-3897, 2021.

SAND, W. *et al.* Long-term evaluation of acid rock drainage mitigation measures in large lysimeters. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 92, n. 2-3, p. 205-211, 2007.

SAUNDERS, G.W.; KUCERA, H. An evaluation of *rbcL*, *tufA*, *UPA*, *LSU* and *ITS* as DNA barcode markers for the marine green macroalgae. **Cryptogamie, Algologie**, v. 31, n. 4, p. 487-528, 2010.

SANTOS, K.B. *et al.* Removal of Pollutants from an AMD from a Coal Mine by Neutralization/Precipitation Followed by “In Vivo” Biosorption Step with the Microalgae *Scenedesmus* sp. **Minerals**, v. 10, n. 8, p. 711, 2020.

SCHENCK, R.C.; TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C. The effect of pH on iron and manganese uptake by a green alga. **Limnology and oceanography**, v. 33, n. 4, p. 538-550, 1988.

SCHIPPERS, A. *et al.* Large-scale experiments for microbiological evaluation of measures for safeguarding sulfidic mine waste. **Waste Management**, v. 21, n. 2, p. 139-146, 2001.

SEGHEZZO, L. *et al.* A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource technology**, v. 65, n. 3, p. 175-190, 1998.

SHIN, W.; KANG, K.; KIM, Y. Adsorption characteristics of multi-metal ions by red mud, zeolite, limestone, and oyster shell. **Environmental Engineering Research**, v. 19, n. 1, p. 15-22, 2014.

SIECESC, 2008. Disponível em: <<http://www.siecesc.com.br/>>. Acesso em: 08 abr. 2022

SILAMBARASAN, S. *et al.* Scenedesmus sp. strain SD07 cultivation in municipal wastewater for pollutant removal and production of lipid and exopolysaccharides. **Environmental Research**, v. 218, p. 115051, 2023.

SILVA, L.F.O; WOLLENSCHLAGER, M.; OLIVEIRA, M.L.S. A preliminary study of coal mining drainage and environmental health in the Santa Catarina region, Brazil. **Environmental geochemistry and health**, v. 33, n. 1, p. 55-65, 2011.

SILVER, M. Analytical techniques for research on the abatement of bacterial acid generation in pyritic tailing: Canmet Report 86-3E, **Minerals Research Program, Mineral sciences Laboratories**, Ottawa, 1985.

SIMATE, G.S.; NDLOVU, S. Acid mine drainage: Challenges and opportunities. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 3, p. 1785-1803, 2014.

SINGER, P.C.; STUMM, W. Acidic mine drainage: the rate-determining step. **Science**, v. 167, n. 3921, p. 1121-1123, 1970.

SKOUSEN, J. *et al.* Review of passive systems for acid mine drainage treatment. **Mine Water and the Environment**, v. 36, p. 133-153, 2017.

SKOUSEN, J.; ZIEMKIEWICZ, P. Performance of 116 passive treatment systems for acid mine drainage. **National meeting of the American society of mining and reclamation, Breckenridge**, 2005.

SKOUSEN, J.G.; ZIEMKIEWICZ, P.F.; MCDONALD, L.M. Acid mine drainage formation, control and treatment: Approaches and strategies. **The Extractive Industries and Society**, v. 6, n. 1, p. 241-249, 2019.

SMUDA, J. *et al.* Element cycling during the transition from alkaline to acidic environment in an active porphyry copper tailings impoundment, Chuquicamata, Chile. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 140, p. 23-40, 2014.

SOUZA, L.S. *et al.* Morphological and ultrastructural characterization of the acidophilic and lipid-producer strain Chlamydomonas acidophila LAFIC-004 (Chlorophyta) under different culture conditions. **Protoplasma**, v. 254, p. 1385-1398, 2017.

SONI, A.; MISHRA, B.; SINGH, S. Pit lakes as an end use of mining: A review. **Journal of Mining and Environment**, v. 5, n. 2, p. 99-111, 2014.

SPELLMAN J.R.; CHARLES D. *et al.* Abatement of circumneutral mine drainage by Co-treatment with secondary municipal wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 271, p. 110982, 2020.

SPELLMAN, F.R. Spellmann's Standard Handbook for Wastewater Operations. Vol. 1, 2 and 3. **Lancaster PA: Technomic Publishers**. p. 60-80, 1999.

STEVENS, A.E.; MCCARTHY, B. C.; VIS, MORGAN L. Metal content of Klebsormidium-dominated (Chlorophyta) algal mats from acid mine drainage waters in southeastern Ohio. **Journal of the Torrey Botanical Society**, p. 226-233, 2001.

STRICKLAND, J.D.H.; PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis**. 1972.

STROSNIDER, W. H. J. *et al.* Passive co-treatment of acid mine drainage and sewage: Anaerobic incubation reveals a regeneration technique and further treatment possibilities. **Ecological engineering**, v. 61, p. 268-273, 2013a.

STROSNIDER, W. H.; NAIRN, R. W. Effective passive treatment of high-strength acid mine drainage and raw municipal wastewater in Potosí, Bolivia using simple mutual incubations and limestone. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 105, n. 1-2, p. 34-42, 2010.

STROSNIDER, W.H.J. *et al.* Biochemical oxygen demand and nutrient processing in a novel multi-stage raw municipal wastewater and acid mine drainage passive co-treatment system. **Water Research**, v. 45, p. 1079-1086, 2011a.

STROSNIDER, W.H.J. *et al.* Passive co-treatment of Zn-rich acid mine drainage and raw municipal wastewater. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 125, p. 110-116, 2013b.

STROSNIDER, W.H.J; WINFREY, B.K.; NAIRN, R.W. Novel passive co-treatment of acid mine drainage and municipal wastewater. **Journal of Environmental Quality**, v. 40, n. 1, p. 206-213, 2011b.

SUGANYA, T. *et al.* Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 909-941, 2016.

TAN, G. *et al.* Seasonal and spatial variations in microbial community structure and diversity in the acid stream draining across an ongoing surface mining site. **FEMS microbiology ecology**, v. 70, n. 2, p. 277-285, 2009.

TCHOBANOGLIOUS, G. *et al.* **Wastewater engineering: Treatment and resource recovery**. New York: McGraw-Hill Education, 2014.

TIEN, C.J. Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 605-613, 2002.

TOLONEN, Emma-Tuulia *et al.* Acid mine drainage treatment using by-products from quicklime manufacturing as neutralization chemicals. **Chemosphere**, v. 117, p. 419-424, 2014.

TOPARE, N.S.; ATTAR, S.J.; MANFE, M.M. Sewage/wastewater treatment technologies: a review. **Sci. Revs. Chem. Commun**, v. 1, n. 1, p. 18-24, 2011.

TORMA, A. E. The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes. In: **Advances in Biochemical Engineering**, Volume 6. Springer, Berlin, Heidelberg, 1977. p. 1-37.

TUDOR, H.E.A.; GRYTE, C.C.; HARRIS, C.C. Seashells: detoxifying agents for metal-contaminated waters. **Water, air, and soil pollution**, v. 173, p. 209-242, 2006.

TYSON, G.W. *et al.* Genome-directed isolation of the key nitrogen fixer *Leptospirillum ferrodiazotrophum* sp. nov. from an acidophilic microbial community. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 10, p. 6319-6324, 2005.

USEPA. “**Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils**,” Revision 2. Washington, DC, 1996.

USEPA. Report to congress: impacts and control of CSOs and SSOs. **US EPA Office of Water**, Washington, DC, USA, 2004.

VALENTE, T. *et al.* Characterization of water reservoirs affected by acid mine drainage: geochemical, mineralogical, and biological (diatoms) properties of the water. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 6002-6011, 2016.

VALIELA, I. *et al.* Couplings of watersheds and coastal waters: sources and consequences of nutrient enrichment in Waquoit Bay, Massachusetts. **Estuaries**, v. 15, n. 4, p. 443-457, 1992.

VAN LIER, R. J. M.; BUISMAN, C. J. N.; PIRET, N. L. **Thiopaq (r) technology: Versatile high-rate biotechnology for the mining and metallurgical industries**. 1999.

VEGA, B.O.; VOLTOLINA, D. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. Centro de Investigaciones, 2007.

VERB, R.G.; VIS, M.L. Macroalgal communities from an acid mine drainage impacted watershed. **Aquatic Botany**, v. 71, n. 2, p. 93-107, 2001.

VIEIRA, H.H. *et al.* tufA gene as molecular marker for freshwater Chlorophyceae. **Algae**, v. 31, n. 2, p. 155-165, 2016.

VIGNESWARAN, S.; VISVANATHAN, C. Water treatment processes: simple options. CRC Press, 1995.

VITAL, B. *et al.* Treatment of acid mine drainage by forward osmosis: Heavy metal rejection and reverse flux of draw solution constituents. **Chemical Engineering Journal**, v. 332, p. 85-91, 2018.

VON SPERLING, M. **Basic principles of wastewater treatment**. IWA publishing, 2007.

WANG, H. *et al.* Performance and microbial response in a multi-stage constructed wetland microcosm co-treating acid mine drainage and domestic wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 6, p. 106786, 2021.

WANG, K. **Integrated anaerobic and aerobic treatment of sewage**. Wageningen University and Research, 1994.

WATZLAF, G.R. *et al.* The passive treatment of coal mine drainage. **United States Department of Energy National Energy Technology Laboratory Internal Publication**, p. 1-72, 2004.

WAYBRANT, K.R.; BLOWES, D.W.; PTACEK, C.J. Selection of reactive mixtures for use in permeable reactive walls for treatment of mine drainage. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 13, p. 1972-1979, 1998.

WEI, X. *et al.* Shilpa. Phosphorus removal by acid mine drainage sludge from secondary effluents of municipal wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 42, n. 13, p. 3275-3284, 2008.

WEISKEL, P.K.; HOWES, B. L. Differential transport of sewage-derived nitrogen and phosphorus through a coastal watershed. **Environmental science & technology**, v. 26, n. 2, p. 352-360, 1992.

WILLIAMS, K.P.; KELLY, D.P. Proposal for a new class within the phylum Proteobacteria, Acidithiobacillia classis nov., with the type order Acidithiobacillales, and emended description of the class Gammaproteobacteria. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 63, n. Pt\_8, p. 2901-2906, 2013.

WINFREY, B.K. *et al.* Highly effective reduction of fecal indicator bacteria counts in an ecologically engineered municipal wastewater and acid mine drainage passive co-treatment system. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 12, p. 1620-1626, 2010.

WOLFE, N.; HEDIN, R.S.; WEAVER, T. Sustained treatment of AMD containing Al and Fe<sup>3+</sup> with limestone aggregate. **Proceedings of the IMWA symposium, Sydney, NS, Canada**. p. 237-241, 2010.

WOLLMANN, F. *et al.* Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. **Engineering in Life Sciences**, v. 19, n. 12, p. 860-871, 2019.

XINGYU, L. *et al.* A novel low pH sulfidogenic bioreactor using activated sludge as carbon source to treat acid mine drainage (AMD) and recovery metal sulfides: Pilot scale study. **Minerals Engineering**, v. 48, p. 51-55, 2013.

YANG, J. *et al.* Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341. **Bioresource technology**, v. 175, p. 537-544, 2015.

YOUNGER, P.L.; HENDERSON, R. Synergistic wetland treatment of sewage and mine water: Pollutant removal performance of the first full-scale system. **Water Research**, v. 55, p. 74-82, 2014.

ZACHARA, J.M.; KITTRICK, J.A.; HARSH, J.B. The mechanism of  $Zn^{2+}$  adsorption on calcite. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 52, n. 9, p. 2281-2291, 1988.

ZHOU, H.; SMITH, D. W. Advanced Technologies in Water and Wastewater Treatment. **J. Environ. Engg. Sci.**, v. 1, p. 247-264, 2002.

ZIEMKIEWICZ, P. F. *et al.* **Acid mine drainage treatment with armored limestone in open limestone channels**. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, 1997.

ZIEMKIEWICZ, P.F.; SKOUSEN, J.G.; SIMMONS, J. Long-term performance of passive acid mine drainage treatment systems. **Mine water and the Environment**, v. 22, p. 118-129, 2003.